

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA



* 5 3 0 9 5 7 4 5 2 3 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**ESTUDIO SOBRE METODOLOGIAS Y ANÁLISIS DE
CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN EL AEROSOL
DE LA CIUDAD DE MADRID**

MEMORIA QUE PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR PRESENTA

D. FRANCISCO JAVIER MÉNDEZ GONZÁLEZ

Madrid, 1992



ARCHIVO

FRANCISCO JAVIER MÉNDEZ GONZÁLEZ

**ESTUDIO SOBRE METODOLOGIAS Y ANALISIS DE CONTAMINANTES
ORGANICOS EN EL AEROSOL DE LA CIUDAD DE MADRID**

DIRECTOR

DRA. D^a. MILAGROS PÉREZ GARCÍA

TUTOR

DR.D. LUIS MARIA POLO DÍEZ

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Química Analítica

Madrid, 1992

A Guadalupe, por su apoyo constante.

A nuestros hijos.

A mi padre, in memoriam.

El trabajo recogido en la presente memoria se ha realizado en el Centro Nacional de Sanidad Ambiental del Instituto de Salud Carlos III de Madrid.

El autor desea expresar su agradecimiento a la Dra. D^a. Milagros Pérez García, Investigador Principal del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), por su dirección y ayuda constante en la realización de este trabajo.

Manifiesta también su agradecimiento a todos sus compañeros del Centro, y de modo especial a Paloma Méndez, por la ayuda prestada en el tratamiento de las muestras, así como a Dolores Herce, en la identificación de las muestras por espectrometría de masas.

Igualmente, a la Subdirección General de Control del Instituto de Salud Carlos III, por el apoyo recibido, y al Director del Instituto de Protección Radiológica y Medio Ambiente (CIEMAT), por las facilidades dadas para la realización del trabajo.

Así mismo, expresa su agradecimiento a Rosa Pérez y a Alberto Quejido, del CIEMAT, por su colaboración en el tratamiento estadístico de los datos.

Finalmente, el sincero agradecimiento al Prof. Dr. Luis María Polo Díez, Director del Departamento de Química Analítica de la UCM, por haber aceptado la tutoría de esta memoria.

INDICE

1. INTRODUCCION	1
1.1. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACION DE ESTE TRABAJO	2
1.2. CONTAMINANTES ORGANICOS ATMOSFERICOS	6
1.2.1. Materia particulada atmosférica: concepto de aerosol y sus características generales	8
1.2.1.1. Caracterización de la materia particulada y su distribución	10
1.2.1.2. Relación diámetro de partícula - efectos	13
1.2.1.3. Composición de las partículas	16
1.3. HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS	18
1.3.1. Fuentes, formación y destino	18
1.3.2. Permanencia y distribución de los hidrocarburos alifáticos en la atmósfera	22
1.4. HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS	25
1.4.1. Características generales	25
1.4.2. Formación y fuentes de emisión	27
1.4.3. Actividad cancerígena y carácter de riesgo de los PAH's	36
1.4.4. Fotodegradación y permanencia de los PAH's	41
1.4.4.1. Derivados nitrados de los PAH's	42
1.5. EFECTOS DE LOS PAH'S SOBRE LA SALUD	44
1.6. COMPUESTOS AROMÁTICOS POLIHETEROCÍCLICOS	46
2. ESTUDIO DE LAS METODOLOGIAS ACTUALMENTE UTILIZADAS	48
2.1. MUESTREO Y CONCENTRACION	49
2.1.1. Estudio bibliográfico	49
2.1.2. Introducción	50
2.1.3. Parámetros básicos	51
2.1.4. Sistemas de captación	54

2.1.5. Criterios de selección	56
2.1.5.1. Descripción de los Equipos de Alto Volumen	58
2.1.5.2. Sistemas de captación de compuestos orgánicos en fase de vapor	66
2.1.6. Sistemas filtrantes	72
2.1.6.1. Criterios de selección	75
2.1.7. Estudio experimental de la eficacia de captación en filtros de fibra de vidrio realizada con un equipo de alto volumen	77
2.2. METODOS DE EXTRACCION DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS . .	80
2.2.1. Estudio bibliográfico	80
2.2.2. Introducción	81
2.2.3. Agentes extractantes	81
2.2.4. Características de los disolventes	83
2.2.5. Disolventes seleccionados	86
2.2.6. Metodologías de extracción	86
2.2.7. Estudio experimental de los métodos de soxhlet y ultrasonido con los disolventes seleccionados	90
2.3. METODOS DE PURIFICACION O CLEAN-UP	102
2.3.1. Estudio bibliográfico	102
2.3.2. Introducción	103
2.3.3. Descripción de los procedimientos de purificación o clean-up más utilizados en la actualidad	103
2.3.4. Descripción de los adsorbentes más utilizados	108
2.3.5. Estudio experimental de la purificación o clean-up de los extractos del aerosol	113
2.4. SEPARACIÓN E IDENTIFICACION DE HIDROCARBUROS ALIFATICOS Y AROMATICOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN HRGC	118
2.4.1. Estudio bibliográfico	118
2.4.2. Introducción	119
2.4.3. Instrumentación	119
2.4.3.1. Columnas	119
2.4.3.2. Detectores	127
2.4.3.3. Sistemas de inyección	128

2.4.3.4. Determinación de los parámetros operacionales . .	130
2.4.3.5. Linealidad de la respuesta del detector	137
2.4.3.6. Resolución y eficacia	138
2.4.3.7. Limite de detección	139
2.4.3.8. Identificación y medida de los compuestos orgánicos ambientales	139
 3. APLICACION DEL ESTUDIO DE METODOLOGIAS REALIZADO A LA CARAC- TERIZACION DEL AEROSOL DE MADRID	142
 3.1. EQUIPOS Y MATERIAL	143
3.1.1. Equipos de muestreo	143
3.1.2. Equipos de extracción y clean-up	143
3.1.3. Equipos cromatográficos	144
3.1.4. Equipo de espectrometría de masas	144
3.1.5. Equipos auxiliares	145
3.1.6. Disolventes y productos químicos	145
3.1.7. Patrones de referencia	145
3.1.8. Material diverso	146
3.2. MUESTREO: TECNICAS Y CARACTERISTICAS	147
3.2.1. Técnicas de muestreo	147
3.2.2. Puntos de muestreo	147
3.2.3. Períodos de muestreo y parámetros meteorológicos	151
3.2.4. Análisis químico	152
3.2.4.1. Extracción y clean-up	152
3.2.4.2. Análisis cromatográfico	155
3.2.4.3. Análisis cualitativo	156
3.2.4.4. Análisis cuantitativo	156
3.3. VALIDACION DEL PROCEDIMIENTO ANALITICO	157
 4. RESULTADOS Y DISCUSION	160
 4.1. HIDROCARBUROS ALIFATICOS	161
4.2. HIDROCARBUROS AROMATICOS	181

4.3. ANALISIS E IDENTIFICACION DE LAS MUESTRAS POR CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASAS	198
4.4. DISTRIBUCION DE LOS HIDROCARBUROS ALIFATICOS Y AROMATICOS POR TAMAÑO DE PARTICULA	199
4.5. INFLUENCIA DE LOS PARAMETROS METEOROLOGICOS EN LAS CONCENTRACIONES DE LOS HIDROCARBUROS OBJETO DE ESTE ESTUDIO EN EL AEROSOL	202
4.6. ESTUDIO QUIMIOMETRICO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES ...	206
4.5.1. Análisis de la correlación	208
4.5.2. Análisis de componentes principales	211
4.5.3. Análisis cluster	216
5. CONCLUSIONES	221
6. BIBLIOGRAFIA	226

ANEXOS

INDICE DE ACRONIMOS

ASTM	Normas de la American Society for Testing and Materials.
B(a)P	Benzo(a)Pireno.
CFM	Piés cúbicos minuto (Cubic Feet Minute).
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
CIEMAT	Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas.
C _{max}	n-alcano más significativo.
DMF	Dimetilformamida.
DMSO	Dimetilsufóxido.
ECD	Detector de Captura Electrónica.
ENS	Escuela Nacional de Sanidad.
EPA	Agencia Americana de Protección del Medio Ambiente.
FID	Detector de Ionización de Llama.
FPD	Detector de Fotometría de Llama.
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia.
HRGC	Cromatografía de Gases de Alta Resolución.
IPC	Índice de predominancia de carbono par e impar.
IUPAC	Union of Pure and Applied Chemistry.
LGZ	Estación de muestreo de Legazpi.
MSC	Ministerio de Sanidad y Consumo.
NBS	National Bureau Standard.
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health.
PAH's	Hidrocarburos aromáticos policíclicos.
PAN	Nitrato de Peroxiacilo.
PCA	Análisis de componentes principales.
PID	Detector de Fotoionización.
POM	Materia orgánica policíclica.
SPM	Estación de muestreo de San Pablo de los Montes.

1. INTRODUCCION

1.1. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACION DE ESTE TRABAJO.

La contaminación ambiental es debida, bajo el punto de vista químico a la emisión al Medio Ambiente de sustancias orgánicas e inorgánicas derivadas en gran parte de las actividades del hombre.

Cuando estos productos se encuentran en la atmósfera se ven sometidos a diferentes procesos físicos, químicos o fotoquímicos que determinan el destino de los mismos.

En cierto sentido, se puede considerar a la atmósfera como un gigantesco reactor dinámico donde unos contaminantes considerados como inertes y otros reactivos, se integran, se mezclan en ella, son transportados, transformados y finalmente eliminados por medio de diferentes procesos (1).

Los compuestos orgánicos en general constituyen una fracción muy significativa de la materia particulada en el aerosol atmosférico.

La combustión incompleta de los combustibles fósiles en su forma más generalizada es una de las aportaciones mas importantes de la materia orgánica particulada al aire que respiramos.

Muchos de los compuestos detectados en el aerosol han resultado tener notoria actividad mutagénica, teratogénica o carcinógena. Un grupo de especial interés ambiental lo constituyen los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH's). Estos compuestos, de cierta estabilidad química en la atmósfera, pueden ser transportados a grandes distancias depositándose posteriormente, por vía húmeda o, dependiendo del tamaño de las partículas, por vía seca en el suelo, en los océanos o bien transformarse en derivados nitrogenados u oxigenados, por intervenir en reacciones fotoquímicas y siendo su toxicidad superior a la de las sustancias de origen.

Esta gran cantidad y diversidad de producción de estos compuestos orgánicos

en atmósferas urbanas se ve así mismo incrementada por los aerosoles procedentes de las actividades industriales, de fuentes naturales y de reacciones químico-físicas de los compuestos en el aire.

El control de las emisiones de compuestos orgánicos a la atmósfera es un campo que cada vez tiene una mayor importancia y desarrollo para la protección del medio ambiente.

Para proteger al hombre y su medio ambiente de esta nociva influencia, es necesario no solo identificar y cuantificar todas aquellas sustancias que puedan producir efectos perjudiciales sino también determinar la frecuencia de su contribución a fin de que puedan ser reducidos a niveles tolerables o admisibles.

Con este fin, son cada vez mayores las inversiones realizadas para el desarrollo de nuevas tecnologías que contribuyan a un mejor y más completo conocimiento de estos contaminantes.

Teniendo muy en cuenta todas estas consideraciones, hemos querido enfocar nuestro trabajo siguiendo dos líneas o vertientes interdependientes y consecuentes asegurándonos que el buen hacer y éxito de la primera nos conduzca en la segunda a resultados finales veraces y fiables a niveles de intercomparación con los obtenidos internacionalmente sobre el tema.

Para ello, en primer lugar y como primera línea regidora de nuestro trabajo, hemos realizado un estudio pormenorizado de todas las técnicas requeridas para el control de contaminantes orgánicos en el aerosol atmosférico.

Se ha iniciado con las más adecuadas de muestreo siguiendo con todas y cada una de la metodologías analíticas específicas y precisas necesarias para la determinación de los contaminantes orgánicos en la materia particulada, y de modo especial los referentes a los hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos.

En el tratamiento de la técnica, tan conocida como necesaria de extracción, está incluido no sólo el procedimiento físico-químico de extracción en sí mismo,

sino también el estudio de los disolventes más apropiados para estos fines.

En la purificación se ha considerado la técnica en columna clásica de gel de sílice como método estándar así como también otras técnicas más avanzadas tales como es la cromatografía de líquidos (HPLC).

Dentro del estudio de las metodologías, se ha considerado y estudiado como método analítico más rápido y preciso de separación y cuantificación la cromatografía de gases de alta resolución, HRGC, empleando columnas capilares de sílice fundida.

Para la aplicación de esta técnica cromatográfica al caso concreto objeto de esta tesis se ha procedido al estudio y determinación de las condiciones experimentales óptimas de trabajo para la separación de los contaminantes. Se han obtenido y optimizado los parámetros fundamentales como respuesta y linealidad del detector, límite de detección y precisión, así como las técnicas de inyección y cuantificación utilizadas.

Este estudio de las metodologías, no se ha concretado en un conocimiento bibliográfico exhaustivo de las mismas, sino que fundamentalmente, a partir de estos conocimientos se ha realizado, según nuestro criterio, una selección de metodologías, como las más adecuadas y fiables, para el análisis de estos compuestos asociados a la materia particulada. Seguidamente se ha procedido a la comprobación experimental de la eficacia y precisión de cada una de ellas y a partir de los resultados se ha propuesto el procedimiento normalizado del análisis del aerosol, validándolo con un patrón de polvo atmosférico del National Bureau Standard.

Es con este procedimiento normalizado con el que hemos llevado a cabo la segunda parte de nuestro trabajo como línea consecuente y meta final del mismo que es el " Análisis de contaminantes orgánicos en el aerosol de la ciudad de Madrid".

Para llevar a cabo esta segunda parte del trabajo, se han procesado 278

muestras pertenecientes a tres estaciones urbanas situadas en Madrid capital y localizadas en el Paseo del Prado, Legazpi y Ciudad Universitaria, y una cuarta estación como punto de referencia situada en la localidad de San Pablo de los Montes en la provincia de Toledo. Estas muestras fueron tomadas durante el período comprendido entre Enero del año 1989 y Diciembre de 1990.

En ellas se han determinado todos los parámetros significativos, tanto de hidrocarburos alifáticos como de poliaromáticos, que nos pudieran conducir a los datos necesarios para el estudio y determinación de las fuentes de emisión y su posible incidencia.

Entre los parámetros más significativos determinados podemos indicar las concentraciones totales y sus valores medios anuales en las diferentes estaciones de muestreo para alcanos totales, alcanos biogénicos e hidrocarburos aromáticos y materia particulada así como la distribución de estos compuestos en dicha materia particulada.

A partir de algunos de estos valores, se han determinado el índice de predominancia de carbono (IPC), la mezcla de hidrocarburos no resuelta cromatográficamente (UCM) y la relación de concentraciones de hidrocarburos no resueltos y resueltos (U:R) para los hidrocarburos alifáticos, obteniéndose los diagramas de distribución correspondientes que visualizan los resultados interpretativos habiéndose igualmente tratado de estudiar la influencia de los parámetros meteorológicos sobre los mismos.

De los valores obtenidos se ha llegado a interesantes datos en estrecha concordancia con los obtenidos por otros diversos autores internacionales en diferentes localidades europeas y americanas.

Finalmente debido al gran número de muestras analizadas y de variables estudiadas en las mismas, se ha considerado de gran utilidad hacer un estudio quimiométrico a fin de evaluar, por medio de un análisis multivariante las posibles relaciones entre muestras y variables consideradas. Para ello se ha aplicado el

análisis de correlaciones entre variables, la técnica de análisis de componentes principales y el análisis cluster.

Consideramos que a lo largo de todo este trabajo se ha llegado a interesantes resultados, datos y conclusiones que pueden en gran manera conducir al mejor conocimiento de las técnicas de análisis y de las fuentes emisoras de contaminantes orgánicos pudiendo contribuir de esta forma al establecimiento de un mejor control y posible reducción de estos contaminantes a niveles tolerables y sobre todo, queremos hacer constar que este es el primer estudio que a través de un laborioso y minucioso trabajo experimental aporta datos precisos fiables y comparados sobre contaminantes orgánicos en nuestra ciudad de Madrid.

1.2. CONTAMINANTES ORGANICOS ATMOSFERICOS

Las sustancias emitidas a la atmósfera como contaminantes son fundamentalmente las partículas en suspensión y los hidrocarburos, que representan el 15 % del total de las emisiones y que junto con los óxidos de nitrógeno, los óxidos de azufre y el monóxido de carbono forman los cinco contaminantes considerados como primarios.

Estos contaminantes emitidos a la atmósfera tienen un tiempo de residencia en ella que normalmente es función de la fuente emisora, de las propiedades físico-químicas del compuesto y de las condiciones medioambientales y durante el cual tiene lugar un proceso de mezclado y una interacción entre los contaminantes siguiendo diversos mecanismos de reacción.

El proceso de mezclado se realiza generalmente en la región más baja de la troposfera, o baja atmósfera donde los compuestos se encuentran relativamente más libres para moverse y dispersarse tanto vertical como horizontalmente, en una zona comprendida entre los cincuenta metros y los cinco kilómetros sobre la

superficie terrestre.

La altura de la zona de mezclado es variable: durante el día es de 1 a 2 Km y durante la noche de algunos cientos de metros, y son además susceptibles de variación de forma notable de un día para otro.

Las turbulencias típicas que se generan en la atmósfera son la causa de un contacto íntimo entre el contaminante en estado de vapor y el contaminante asociado al aerosol; este contacto directo es un paso importante en la cadena de acontecimientos que darán como resultado las transformaciones químicas que tendrán lugar posteriormente.

Los procesos de transporte y difusión ocurren simultáneamente. Mediante la difusión se efectúa una dispersión de los gases y las partículas que posteriormente, por mecanismos de eliminación, como el lavado por precipitación, se depositan sobre la superficie terrestre desde la zona de mezclado en un período de tiempo relativamente corto.

Los hidrocarburos en la baja atmósfera están principalmente presentes en forma de gases y/o vapores o asociados a la materia particulada. Estos compuestos agrupan a un elevado número de sustancias.

Dado el gran interés científico y sanitario que presentan los hidrocarburos relacionados con la materia orgánica particulada por su repercusión sobre la salud humana y por el impacto que provocan sobre los ecosistemas, este estudio se ha dirigido exclusivamente a caracterizar este tipo de compuestos.

Debido a la relación que existe entre los hidrocarburos atmosféricos y la materia particulada del aerosol, antes de proceder al estudio y descripción de este tipo de compuestos, consideraremos de interés el conocimiento del concepto de aerosol y sus características principales.

1.2.1. Materia particulada atmosférica: concepto de aerosol y sus características generales.

La materia particulada presente en la atmósfera la define Seinfeld (2) como cualquier sustancia a excepción del agua pura, que existe en la misma en forma sólida o líquida en condiciones normales y cuyo tamaño es microscópico o submicroscópico pero siempre mayor que el tamaño de las moléculas. Su composición química presenta una gran complejidad comparada con el resto de los componentes atmosféricos (SO_2 , CO_2 , NO_x , O_3 , etc).

Las emisiones directas a la atmósfera no son la única fuente de estas partículas, sino que pueden proceder de la condensación de gases o vapores, e incluso de reacciones químicas (3) que provocan la agrupación de especies para formar núcleos de condensación.

Las estimaciones de la producción de partículas tanto de origen natural como antropogénico vienen indicadas en la Tabla 1.

Antropogénicas:

Fuentes directas:	50
Procedentes de gases:	250

Naturales:

Sales marinas:	1000
Incendios forestales:	100
Procedentes de gases:	1300
Polvo resuspendido por el viento:	100
Total:	2800

Tabla 1.- Estimación de la producción de partículas de origen natural y antropogénico expresado en $\text{Tm} / \text{año} \times 10^6$ (4).

Las partículas de origen antropogénico solo representan aproximadamente un

11 % del total de las partículas emitidas a la atmósfera.

La caracterización de la materia particulada no se basa solamente en su concentración másica, sino que es preciso conocer el tamaño, composición química, fase y morfología.

Las partículas inmersas en un gas de forma estable constituyen el aerosol. Muchos de los compuestos orgánicos se encuentran asociados a las partículas, pero dada la baja presión de vapor de algunos de ellos pueden estar repartidos entre las partículas y el gas que las sustenta.

La formación del aerosol tiene lugar a través de una transformación en fase gaseosa en la que se produce una condensación del vapor que se convierte en el aerosol mediante los mecanismos de nucleación homogénea y condensación heterogénea.

En un sistema que posee una fuente de vapor condensable y en el que inicialmente no existen partículas, la presión parcial en la fase vapor puede crear unos niveles de sobresaturación que en un momento determinado den lugar a una nucleación homogénea y a la formación de las partículas del aerosol.

Posteriormente, una condensación sobre estas partículas ayudará a disipar la sobresaturación de la fase vapor cesando momentáneamente la nucleación.

Después de este suceso, la conversión de gas a partícula se deberá a la condensación. En presencia de partículas iniciales, el incremento por condensación puede comenzar en cuanto se generen especies de baja presión de vapor.

Si existe inicialmente gran número de partículas, puede ocurrir que el vapor nunca alcance la sobresaturación necesaria para la nucleación, y entonces el crecimiento por condensación es el mecanismo dominante de la conversión de gas a partícula.

Los aerosoles pueden clasificarse respecto a su origen en: primarios cuando

su procedencia son fuentes de emisión naturales, urbanas, industriales, etc y secundarios, cuando tienen su origen en reacciones químicas en fase gaseosa en las que se generan núcleos que posteriormente formarán especies condensadas.

Los aerosoles primarios están constituidos por partículas de un amplio intervalo de tamaños, mientras que los aerosoles secundarios presentan partículas de tamaños inferiores a 1 nm.

El aerosol puede sufrir variaciones en la atmósfera en relación con su tamaño y composición química e incluso llegar a eliminarse por procedimientos naturales.

Los procesos físico-químicos atmosféricos dan lugar a un envejecimiento progresivo del aerosol, estimándose su tiempo de permanencia en la baja atmósfera de dos a siete días. Sin embargo, su eliminación en zonas próximas al suelo tiene lugar debido a procesos de sedimentación o por impacto en las superficies. A altitudes superiores a 100 metros, la deposición húmeda es la forma predominante de eliminación de partículas.

1.2.1.1. Caracterización de la materia particulada y su distribución.

La caracterización de la materia particulada se ha hecho habitualmente a partir de sus propiedades físico-químicas, pero actualmente se expresa según el tamaño de las mismas (5).

El tamaño de las partículas atmosféricas viene indicado por su diámetro suponiéndolas esféricas, pero, dado que en la atmósfera las partículas son totalmente irregulares, ha de expresarse en términos de diámetro efectivo equivalente. Este valor depende más de sus propiedades físicas que de las geométricas.

De los diferentes tipos de diámetro considerados el más empleado es el

denominado "diámetro aerodinámico", D_a que se define como el diámetro de una esfera de densidad igual a 1 (1 g / cm^3), y que tiene la misma velocidad final de caída en el aire que la partícula en consideración. El valor de este diámetro es útil para determinar tiempos de residencia de la partícula en el aire o localizaciones en el sistema respiratorio en las que puedan alojarse éstas según el tamaño.

El diámetro aerodinámico (6) se expresa según la fórmula:

$$D_a = D_g k \sqrt{\frac{\rho_p}{\rho_0}}$$

en la que:

D_g es el diámetro geométrico,

ρ_p es la densidad de la partícula despreciando los efectos de sustentación o empuje del aire.

ρ_0 es la densidad de referencia = 1 g / cm^3

k es una constante de valor 1 para el caso de una esfera.

Si la partícula es de tipo esférico y de elevada densidad, tendrá un diámetro aerodinámico mayor que el geométrico. En la realidad, la densidad de las partículas suele ser menor que la de las sustancias puras debido fundamentalmente a que éstas poseen huecos, grietas o poros que hacen disminuir el valor de la misma.

De modo general, siempre que se hable de diámetro de partícula se sobreentiende que se trata del diámetro aerodinámico.

La distribución de las partículas ambientales viene dada por Whitby (7-8) en relación con su tamaño y origen según se esquematiza en la figura 1.

El intervalo de diámetro es el comprendido entre 0.002 y 100 micras y su distribución es trimodal.

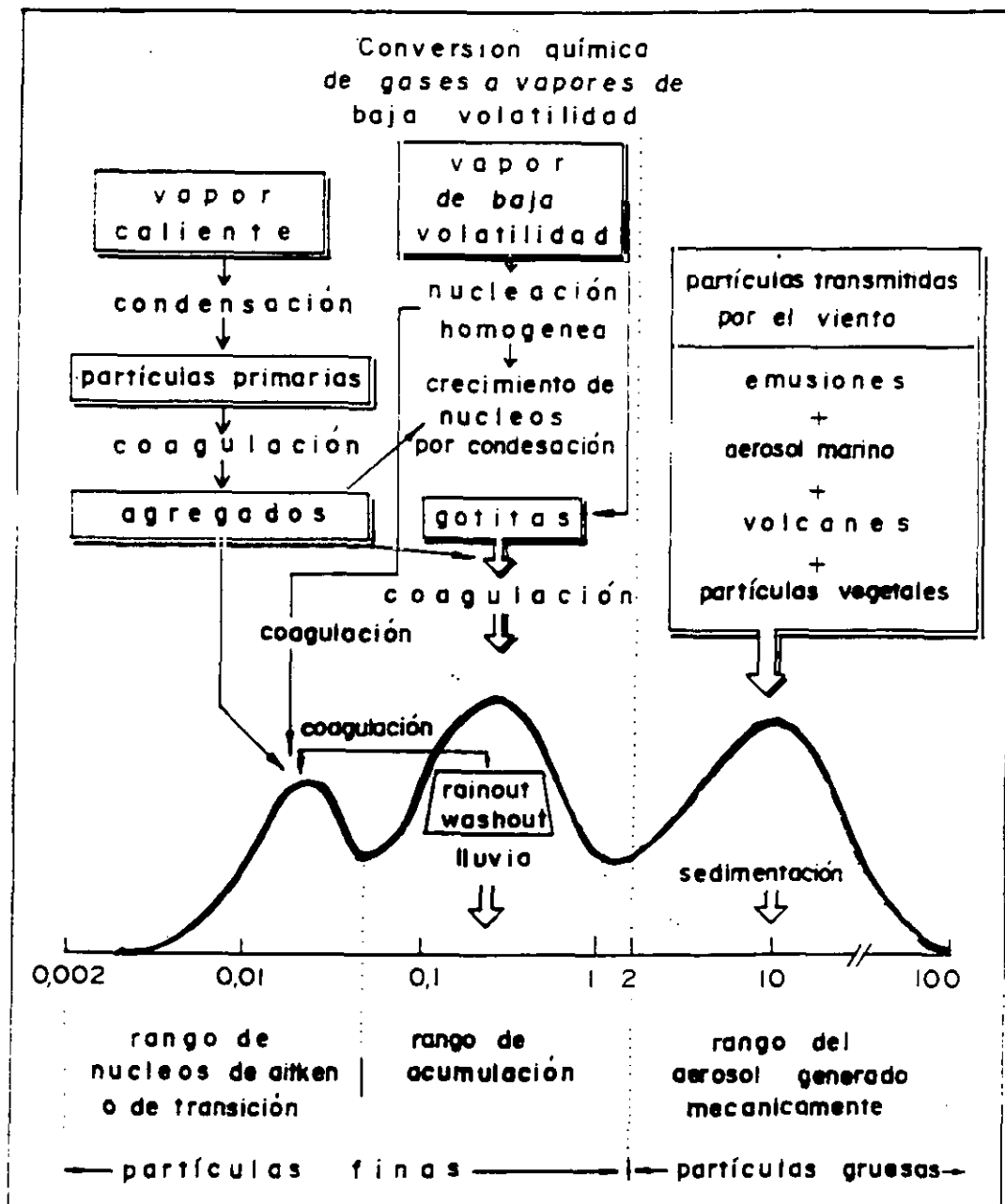


Figura 1.- Distribución de las partículas respecto a su tamaño y origen.

La primera moda, entre 0.005 - 0.1 micras está formada por partículas o núcleos primarios que tienen su origen en la condensación del vapor caliente. Tienen una vida media muy corta ya que rápidamente se incorporan a siguientes

distribuciones al formar agregados de mayor tamaño (9). Aunque son muy numerosas sólo representan un pequeño porcentaje del total de la masa.

La segunda moda comprende las partículas en el intervalo 0.1 - 2 micras. Su masa representa el 50 % del total de la masa del aerosol. Estas partículas son todavía lo suficientemente pequeñas para depositarse, y se eliminan mediante los procesos de deposición húmeda.

En los procesos de combustión se producen partículas pertenecientes a estos dos tipos de distribuciones, así, por ejemplo la combustión de la acetona da origen a partículas de 0.3 micras mientras que las producidas por el metanol son de 0.01 micras y las correspondientes al propano son de 0.007 micras (10).

Las dos modas mencionadas anteriormente constituye el intervalo de las denominadas "partículas finas", cuya distribución es bimodal.

El intervalo comprendido entre 2 micras y 100 micras está constituido por las partículas gruesas cuyo origen fundamental es el biogénico y están originadas por procesos mecánicos producidos por la erosión del viento, los volcanes y el aerosol marino. Este tipo de partículas está constituida principalmente por calcio, hierro y sílice.

1.2.1.2. Relación diámetro de partícula - efectos

Las partículas de menor tamaño tienen una incidencia sanitaria importante debido fundamentalmente a la posibilidad de alojarse en el sistema respiratorio (11).

En el diagrama de la figura 2, vienen representados los diferentes lugares dónde pueden alojarse las partículas. Es de considerar que aquellas que posean un

diámetro menor que una micra pueden alcanzar incluso los alvéolos pulmonares dañando la parte más delicada del sistema respiratorio (12)(13).

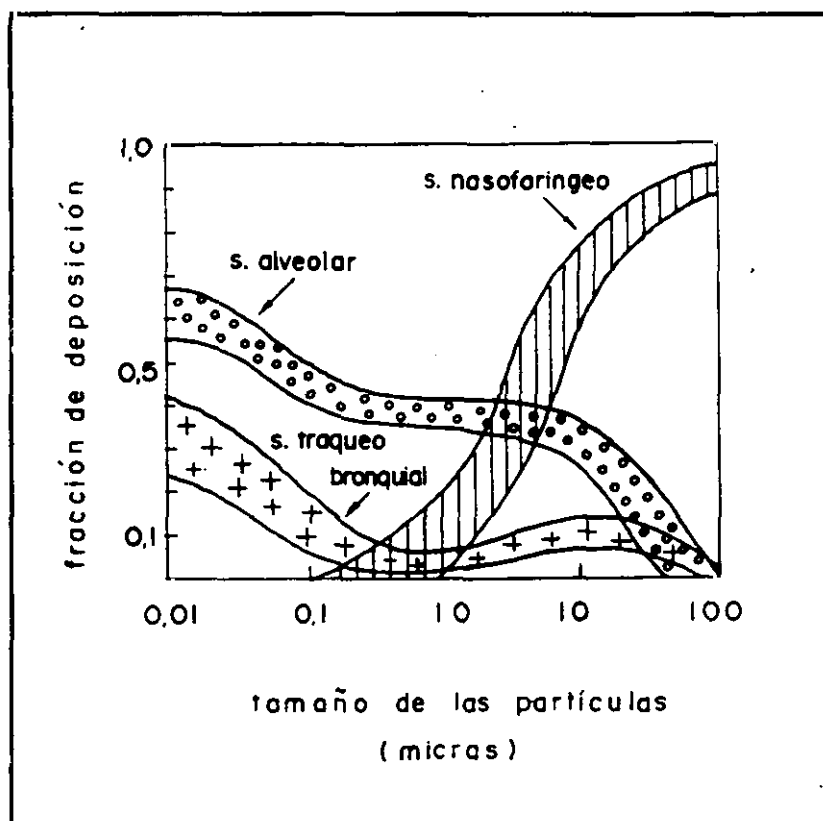


Figura 2.- Alojamiento de las partículas en el tracto respiratorio.

En la Tabla 2 se representan los efectos producidos por las partículas sobre cada una de las regiones del pulmón (14).

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (USEPA), de acuerdo con el acta del aire limpio de 1977 ha propuesto la revisión del National Ambient Air Quality Standards en lo que se refiere a tamaños de las partículas y su relación con la salud, estableciendo un tamaño superior de corte para las partículas inhalables de 10 micras y de 2.5 micras para las respirables (15) (16).

Los compuestos tóxicos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos están asociados a las partículas respirables, Brodding G.(17) estudió la asociación en doce PAH's en el intervalo de diámetros de 10 a 0.35 micras. Las concentraciones máximas se alcanzaron para intervalos entre 0.85 y 1.8 micras estando el 94 % de los PAH's estudiados por debajo del diámetro de 2.9 micras. Similares resultados se han obtenido para metales tóxicos como cadmio, plomo y cobre (5)(18).

LOCALIZACION	PARTICULAS SOLUBLES	PARTICULAS INSOLUBLES
REGION NASOFARINGEA	1. Daños a la mucosa y parálisis de los cilios 2. Procesos alérgicos	1. Paso al tracto gastrointestinal 2. Eliminación mediante esputo 3. Procesos alérgicos
REGION TRAQUEOBRONQUIAL	1. Broncoconstricción refleja 2. Procesos alérgicos 3. Daños en la mucosa y parálisis de los cilios 4. Susceptibilidad a infecciones 5. Potenciación en presencia de <i>gases como SO₂, NO₂, O₃, etc</i>	1. Aclaramiento a corto plazo del tracto gastrointestinal 2. Eliminación mediante esputo
REGION ALVEOLAR	1. Daños en el epitelio alveolar 2. Estrangulamiento en unidad <i>periférica respiratoria</i> 3. Potenciación en presencia de <i>gases como SO₂, NO₂, O₃, etc</i> Puede conducir a la liberación de enzimas proteolíticas Enfisema y destrucción alveolar	<u>Retención a corto plazo:</u> 1. Reacción con el tejido. Efectos locales 2. Permanecer en el tejido (inerte) 3. Transporte a ganglios linfáticos <u>Retención a largo plazo:</u> Fagocitosis y transporte a los bronquiolos finales con posterior aclaramiento del compartimento <i>traqueobronquial</i>

Tabla 2.- Efectos producidos sobre la salud por las partículas inhaladas tras su deposición en los principales lugares del tracto respiratorio.

1.2.1.3. Composición de las partículas


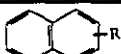
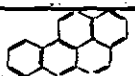
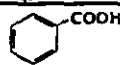
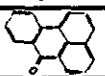
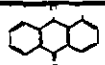
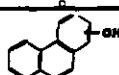
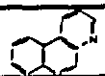
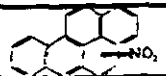
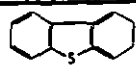


Las partículas orgánicas están constituidas generalmente por carbón elemental y carbono orgánico y al igual que el resto de las partículas pueden ser finas y gruesas según su origen y composición química.

Las partículas carbonosas según Dzubay (19) y Steven (20) representan el 37 % del total, correspondiendo un 14 % de éstas a partículas finas y un 24 % de gruesas para zonas rurales y el 18 % y 12 % respectivamente para zonas urbanas.

Los aerosoles marinos cuya composición fundamental son sales inorgánicas, pueden existir en menores proporciones compuestos orgánicos. La formación de estos aerosoles puede tener lugar en las olas que toman el aire que las circunda y lo hacen emerger en forma de burbujas a la superficie englobando compuestos orgánicos que se encuentran en el agua, cuando estas burbujas se rompen producen pequeñas gotitas que son elevadas a la atmósfera y pueden contener partículas entre 0.1 y 100 micras de tamaño. Entre estos compuestos orgánicos se han detectado esteroides, ácidos y alcoholes grasos entre otros compuestos orgánicos (21).

Se deduce pues que los compuestos orgánicos están presentes tanto en aerosoles de zonas urbanas, como rurales, alejadas de núcleos de población o marinas, siendo en todos los casos de gran complejidad química aún aquellos que proceden de las zonas más remotas (22)(23). Se han encontrado en el Atlántico Norte hidrocarburos aromáticos, alifáticos y compuestos polares tales como ácidos, alcoholes, cetonas y ácidos grasos.

Los aerosoles urbanos están constituidos por ceras vegetales, hidrocarburos de cadena larga y residuos petrolíferos en general compuestos multifuncionales procedentes de la conversión de gas a partícula o de reacciones fotoquímicas. En la Tabla 3, se representan algunos de los compuestos del aerosol urbano.

COMPUESTOS	EJEMPLO	CONCENTRACION AIRE (ng/m ³)(*)
Alcanos (C ₁₈ -C ₅₀)	n-C ₂₂ H ₄₆	1000-4000
Alquenos	n-C ₂₂ H ₄₄	2000
Alquilbencenos		80-680
Naftalenos		40-500
PAH's: Benzo(a)pireno		6.6-2.1
Acidos aromáticos		90-380
Cetonas cíclicas		2-48
Quinonas		0.04-0.12
Fenoles		0.3
Esteres	C ₆ H ₄ -(COO-C ₄ H ₉) ₂	2-132
Aldehídos	CHO-(CH ₂) _n -CHO	30-540
Ac.carboxílicos alifáticos	C ₁₅ H ₃₁ COOH	220-365
Ac.dicarbixílicos alifáticos	HOOC-(CH ₂) _n -COOH	40-1350
Azarenos		0.01-0.2
N-nitrosamines	(CH ₃) ₂ HNO	0.03-0.96
Nitrocompuestos	CHO(CH ₂) _n CH ₂ ONO ₂	40-1010
Nitrocompuestos aromáticos		0.002-1.7 (77)
Heterociclos con azufre		0.014-0.02
Clorofenoles		5.7-7.8
Clorobencenos		0.5-3

(*) Datos obtenidos en diferentes ciudades europeas y americanas.

Tabla 3.- Tipos de compuestos orgánicos encontrados en el aerosol urbano (24).

1.3. HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS.

1.3.1. Fuentes, formación y destino.

Los hidrocarburos alifáticos o parafinas son componentes fundamentales de la materia particulada. El grupo de estos hidrocarburos está constituido por series de alcanos lineales y ramificados, además de cicloalcanos de un número de carbonos superiores al $n\text{-C}_{14}$. Su proporción varía entre el 20 % y el 65 % del total de la materia particulada orgánica.

Estos datos varían en función de algunos parámetros meteorológicos tales como la temperatura ambiental por su marcada influencia en la presión de vapor de cada uno de estos compuestos modificando el equilibrio entre fase vapor y fase particulada.

Los n -alcanos se han detectado en atmósferas tanto rurales como urbanas e incluso oceánicas (22)(25)(26)(27). En estas atmósferas se han identificado más de 130 especies de alcanos de los cuales las dos terceras partes se encuentran en fase vapor y una tercera parte en forma de partículas.

Existen dos tipos principales de fuentes de los hidrocarburos alifáticos, las naturales y las antropogénicas.

Los inventarios de emisiones a la atmósfera de este tipo de compuestos vienen referidos a hidrocarburos totales o incluso, menos específicamente a emisiones orgánicas totales. Pero hemos de tener en cuenta que en dichos inventarios, de por sí poco actualizados, existen discrepancias de valores en cuanto a las emisiones.

Las cantidades estimadas totales de hidrocarburos biogénicos están entre

120 - 830 x 10⁶ toneladas / año (28) (29), de las cuales la mayor parte representan compuestos orgánicos volátiles procedentes de la vegetación y compuestos derivados fundamentalmente de tipo terpénico.

Parece ser que, en general, las emisiones biogénicas representan aproximadamente un 95 % del total de las emisiones (30)(31) mientras que las antropogénicas están estimadas entre 27-67 x 10⁶ Tm/año (29)(32). No obstante, y a pesar de su bajo porcentaje un 5% y según otros autores hasta un 20 %, representan una constante amenaza para el medio ambiente.

Los hidrocarburos alifáticos procedentes de fuentes biogénicas provienen fundamentalmente del reino vegetal, de los pantanos, los incendios forestales y el océano. Eichmann (26), ha estimado una producción de alcanos por el océano de más de 3.6 x 10⁻⁵ Tm / año. Hay una clara predominancia de cadenas con número impar de átomos de carbono comprendidos entre el n-C₁₅ y el n-C₃₅. Las plantas terrestres producen n-alcanos de cadena comprendida entre el n-C₂₁ y el n-C₃₃ átomos de carbono predominando los correspondientes a las cadenas de entre 27 y 33 átomos de carbono que son alcanos asociados con las ceras vegetales (33)(34).

Las principales fuentes antropogénicas de hidrocarburos alifáticos con destino a la atmósfera, son las combustiones de los carburantes, el petróleo y sus derivados: gasolina, gasoleo, en sus diferentes versiones, fuels, aceites lubricantes, combustión tanto de la biomasa como de los diferentes tipos de desechos.

En el transcurso de estas combustiones, las parafinas según O.Hoffmann y E.L.Wynder (35), pueden romperse por procesos de craking en el carburador u otros lugares de los motores y después por recombinación formar cadenas de tamaño superior aunque también existe parte de éstas que no se alteran y se emiten a la atmósfera sin cambios apreciables.

Aunque la gasolina y el gasoleo no contienen cantidades importantes de

n-alcanos superiores al $n\text{-C}_{16}$, es posible encontrar alcanos comprendidos entre $n\text{-C}_{18}$ y $n\text{-C}_{26}$ en los gases producidos en su combustión. Generalmente cada combustible produce un espectro de n-alcanos e isoalcanos conocido como "fingerprint" semejante a una huella dactilar y que ayuda a identificar las fuentes de dichos contaminantes.

El petróleo puede considerarse como el principal contribuyente de hidrocarburos de origen antropogénico a la atmósfera, ya sea directamente o a través de sus productos de transformación.

La composición del petróleo varía en función de su región de origen o incluso del tiempo de su formación. Debido a las posibilidades de combinación de las moléculas durante el proceso de su formación y maduración, el petróleo está formado por una gran variedad de compuestos químicos.

Los hidrocarburos son los componentes más abundantes en el petróleo, se encuentran en una proporción de 50-98 % (36), son alcanos comprendidos entre uno y cuarenta átomos de carbono aunque hay petróleos que contienen alcanos de hasta sesenta átomos de carbono.

También se encuentran hidrocarburos de tipo isoprenoide, generalmente de cadena superior a trece átomos de carbono, constituidos por grupos de isopreno y entre los que destacan fundamentalmente el pristano C_{19} , (2,6,10,14-tetrametilpentadecano) y el fitano C_{20} , (2,6,10,14-tetrametilhexadecano) productos ambos de diagénesis o transformación del fitol, en el aerosol atmosférico y en los gases de combustión de los motores. Estos dos compuestos se utilizan como trazadores moleculares en los estudios del aerosol y de los sedimentos marinos (37).

En la Tabla 4 se indican unos ejemplos de la composición de algunos petróleos y combustibles. En ella puede apreciarse que la fracción correspondiente a compuestos de elevado punto de ebullición y que representa una proporción entre el 76% y el 81%, está constituida fundamentalmente por hidrocarburos

COMPONENTES CARACTERISTICOS	PRUDHOE BAY	LOUISIANA	KUWAIT	FUELOIL	FUELOIL
Gravedad API(20%)	27.8	34.5	31.4	31.6	7.3
Azufre (%)	0.94	0.25	2.44	0.3	21.5
Nitrógeno (%)	0.23	0.69	0.14	0.024	0.94
Níquel (ppm)	10	2.2	7.7	0.5	89.0
Vanadio (ppm)	20	1.9	28.0	1.5	73.0
Fracción:20-205°C. Naftas(%)	23.2	18.6	22.7		
Parafinas	12.5	8.8	16.2		
Naftalenos	7.4	7.7	4.1		
Aromáticos	3.2	2.1	2.4		
- bencenos	0.3	0.2	0.1		
- tolueno	0.6	0.4	0.4		
- C ₈ aromáticos	0.5	0.7	0.8		
- C ₉ aromáticos	0.06	0.5	0.6		
- C ₁₀ aromáticos	-	0.2	0.3		
- C ₁₁ aromáticos	-	0.1	0.1		
Fracción > 205°C (%)	76.8	81.4	77.3		
Saturados	14.4	56.3	34	61.8	21.1
- nC ₁₁ -nC ₃₂	5.8	5.2	4.7	8.07	1.73
- isoparafinas	-	14.0	13.2	22.3	5.0
- cicloparafinas 1 anillo	9.9	12.4	6.2	17.5	3.9
- cicloparafinas 2 anillos	7.7	9.4	4.5	9.4	3.4
- cicloparafinas 3 anillos	5.5	6.4	3.3	4.5	2.9
- cicloparafinas 4 anillos	5.4	4.8	1.8	0	2.7
- cicloparafinas 5 anillos	-	3.2	0.4	0	1.9
- cicloparafinas 6 anillos	-	1.1	-	0	0.4
Aromáticos (%)	25	16.5	21.9	38.2	34.2
- bencenos	7.0	3.9	4.8	10.3	1.9
- indano y tetralinas	-	2.4	2.2	7.3	2.1
- dinaftenobencenos	-	2.9	2.0	4.6	2.0
- naftalenos	9.9	1.3	0.7	5.9	2.6
- acenaftenos	-	1.4	0.9	3.8	3.1
- fenantrenos	3.1	0.9	0.3	1.7	-
- acenaftalenos	-	2.8	1.5	5.4	7.0
- pícenos	1.5	-	-	-	1.7
- crisenos	-	-	0.2	-	-
- benzotiofenos	1.7	0.5	5.4	0.9	1.5
- dibenzotiofenos	1.3	0.4	3.3	-	0.7
- indanotiofenos	-	-	0.6	-	-
Sustancias polares	2.9	8.4	17.9	-	30.3
Sustancias insoluble	1.2	0.2	3.5	-	14.4

Tabla 4.- Composición de diferentes petróleos y combustibles. (38)

saturados, n-parafinas, isoparafinas, etc. La serie de los n-alcanos no presenta preponderancia entre los que tienen número par o impar de átomos de carbono, presentando además escasa proporción de compuestos superiores a n-C₂₀.

1.3.2. Permanencia y distribución de los hidrocarburos alifáticos en la atmósfera

El tiempo de residencia de los alcanos en la atmósfera es variable, y es dependiente de sus características físico-químicas. Los hidrocarburos no metánicos, los alcanos con la excepción del metano, son susceptibles de ser atacados por radicales tales como OH, NO₃ y por el ozono.

Estas reacciones, que se producen en fase gaseosa, determinan el tiempo de residencia para algunos de estos compuestos. Los comprendidos entre C₃ y C₅ permanecen entre algunas horas o varios días, dependiendo del tipo de radical y de la propia reactividad del hidrocarburo. A medida que aumenta el número de átomos de carbono, es mucho menor la reactividad del compuesto (39).

Para el conocimiento y determinación de los orígenes de los hidrocarburos alifáticos ambientales son válidos algunos parámetros interpretativos tales como el índice de predominancia del carbono, IPC, el denominado "UCM" (Unresolved Complex Mixture) y el carbono más representativo C_{máx}.

El IPC viene dado por el valor correspondiente al cociente expresado como

$$IPC = \frac{\sum \text{Homólogos con } n^{\circ} \text{ impar de átomos de C}}{\sum \text{Homólogos con } n^{\circ} \text{ par de átomos de C}}$$

El IPC representa una estimación relativa de la incorporación de la materia particulada reciente de origen biogénico a la de origen antropogénico. Para los

n-alcanos obtenidos de los extractos de aerosoles se ha observado que presentan en general para un amplio intervalo de distribuciones una predominancia de homólogos impares frente a sus homólogos pares. Por el contrario, los n-ácidos grasos y n-alcoholes también existentes en la mayor parte de los aerosoles presentan unas concentraciones similares a los n-alcanos pero con una predominancia de carbonos pares frente a los impares (40).

Generalmente este índice tiende a disminuir con la sedimentación y maduración de la materia orgánica. Por este motivo, el IPC del petróleo tiende a acercarse a la unidad al igual que en los aerosoles donde existe una predominancia de residuos de combustibles.

Este cociente puede ser elevado cuando se trata de aerosoles no influenciados por áreas urbanas con amplio contenido de hidrocarburos biogénicos. En estas zonas rurales o remotas no existen en general n-alcanos inferiores al n-C₂₇. Los valores de estos hidrocarburos de origen biogénico son más abundantes en primavera que en invierno. En áreas urbanas puede haber una ligera predominancia de los n-alcanos n-C₂₇, n-C₂₉ y n-C₃₁. Existe también una distribución de n-alcanos inferiores al n-C₂₃. En procesos de deposición se han detectado IPC comprendidos entre 1.5 y 8.2 (41).

Cuando existen en el aerosol residuos de combustibles no quemados generalmente cuando se trata de gasoleos, suele aparecer un máximo en la distribución de alcanos correspondiente al n-C₁₇ y no hay una predominancia entre el n-C₁₃ y el n-C₂₀.

La distribución normal de alcanos se extiende habitualmente entre el n-C₁₂ y el n-C₃₅. Existe un método más sensible para el cálculo del IPC que consiste en desglosar este IPC en dos intervalos: entre el n-C₁₂ y el n-C₂₅ y entre el n-C₂₆ y el n-C₃₅ que refleja mejor las entradas de compuestos de origen antropogénico y biogénico respectivamente. El IPC de intervalo menor representa a los contaminantes primarios mientras que el de intervalo alto representa aportes de ceras

procedentes de plantas superiores de zonas rurales o próximas a zonas verdes.

Para finalizar, $IPC > 3$ indica contribuciones importantes al aerosol de origen biogénico, mientras que la incorporación de contaminantes de origen antropogénico reducen el valor de este IPC.

El valor $C_{m\acute{a}x}$ representa el alcano que aparece en mayor proporción e indica generalmente cual es la fuente del mismo. En general el valor es mayor o igual a $n-C_{27}$; homólogos predominantes inferiores al $n-C_{27}$ indican entradas de compuestos procedentes del petróleo.

La mezcla compleja no resuelta o "UCM" corresponde a la mezcla constituida por los hidrocarburos ramificados y cíclicos no resuelta cromatográficamente y que aparece en los cromatogramas como una envoltente. Su cuantificación se realiza generalmente mediante planimetría, multiplicando el valor de este área por el factor de respuesta del alcano más próximo a su máximo.

El cociente entre este valor y el que se obtiene de calcular los hidrocarburos resueltos (U:R) proporciona una medida aproximada del nivel de contaminación. En los aerosoles con residuos de petróleo los valores de U:R oscilan entre 1 y 25, mientras que en áreas oceánicas, el valor de este cociente es inferior a 1 (42).

La identificación de marcadores moleculares proporciona información adicional a la obtenida con los índices anteriormente descritos. Estos marcadores moleculares sirven para relacionar el origen de las fuentes.

Los trazadores moleculares suelen tener una incidencia limitada, una fuente específica, estabilidad química y unas concentraciones normalmente adecuadas para su determinación. Se emplea preferentemente para determinar los residuos del petróleo o de plantas superiores. Algunos de ellos proceden del petróleo como es el caso de los terpanos tricíclicos, esteranos, diesteranos, fitano y pristano.

Comparando los tres parámetros IPC, UCM y $C_{m\acute{a}x}$ y junto con la información proporcionada por los trazadores moleculares es posible obtener información de las fuentes de los compuestos orgánicos captados en el aerosol de una zona determinada.

1.4. HIDROCARBUROS AROMATICOS POLICICLICOS.

1.4.1. Características generales

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos homólogos del benceno en los que tres o más anillos se han unido bajo diferentes configuraciones y forman parte de un conjunto de compuestos denominado "materia orgánica policíclica" (POM).

Esta materia orgánica policíclica está constituida fundamentalmente por hidrocarburos aromáticos policíclicos PAH's, compuestos aromáticos policíclicos con nitrógeno, oxígeno y azufre como heteroátomos así como nitroderivados de los PAH's producto de reacciones fotoquímicas en la atmósfera.

El gran interés de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y muchos de los compuestos que constituyen el "POM" se debe a que algunos de ellos se ha demostrado que son agentes cancerígenos para animales de experimentación e incluso pueden en caso de encontrarse en concentraciones suficientes ser supuestamente inductores de algunos tipos de cáncer en el hombre.

Su presencia en la atmósfera es en forma de mezclas complejas, integradas por cientos de estos compuestos con diferentes intervalos de concentración.

Las distribuciones de los PAH's que aparecen en los cromatogramas son diferentes según se trate de productos procedentes del petróleo o de su origen

a un proceso de pirólisis.

En el caso de los compuestos procedentes del petróleo, una de las posibles formas isoméricas predomina sobre el resto de ellas, así, en benzo(a)pireno destaca sobre el benzo(e)pireno y el fenantreno es alrededor de 50 veces más frecuente que su isómero el antraceno.

Si se consideran estos mismos PAH's cuando proceden de los gases de combustión de los motores de gasolina, diesel y otras combustiones, encontramos que la relación benzo(e)pireno / benzo(a)pireno es 1:1, mientras que para fenantreno / antraceno esta relación es 4:1.

En cuanto al grado de alquilación de los PAH's, los hidrocarburos procedentes de combustiones se caracterizan por tener un grado de alquilación menor que los procedentes del petróleo que presentan un elevado número de sustituyentes.

En este proceso de alquilación relacionado estrechamente con la temperatura se observa que a temperaturas por ejemplo de 2000° C, el fenantreno aparece sin ningún tipo de sustituyente; a 800° C se presenta un sustituyente en muy baja proporción; a 400° C son posibles derivados que tienen de uno a cuatro sustituyentes, aunque continúa siendo mayor la proporción del compuesto no sustituido y por último, entre 100-150° C se pueden presentar derivados con hasta seis sustituyentes, entre los que predominan los di y trialkilderivados frente al anillo no sustituido (38).

Por tanto los hidrocarburos aromáticos policíclicos que aparecen más frecuentemente en el medio ambiente atmosférico son compuestos sin cadenas laterales, y su distribución está siempre asociada con varios tipos de aerosoles, y regulada por el transporte de los mismos y dependiendo de diversos factores como son las corrientes de aire, precipitaciones, condiciones meteorológicas, etc.

1.4.2. Formación y fuentes de emisión.

Los compuestos orgánicos policíclicos presentan elevados puntos de ebullición y fusión y son en general extremadamente insolubles excepto algunos tipos de azarenos.

Generalmente los PAH's se encuentran en la atmósfera asociados con las partículas finas (< 2.5 micras) que se forman en la combustión incompleta o pirólisis de los combustibles fósiles, y por procesos de carbonización en la formación del petróleo y del carbón.

La formación de los PAH's en la descomposición térmica de materiales orgánicos está basada en dos mecanismos fundamentales: a) combustión incompleta, o para ser más precisos pirólisis y b) pirosíntesis.

A altas temperaturas, los compuestos orgánicos son parcialmente craqueados o rotos en moléculas menores e inestables (pirólisis). Estos fragmentos en su mayoría radicales, se recombinan formándose moléculas mayores estables como son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (43).

Generalmente en estos mecanismos intervienen compuestos como estireno, fenilacetileno o butilbenceno, fenilbutadieno, etc. Estas reacciones han sido estudiadas por Badger, y su mecanismo de formación se indica a continuación (Figura 3).

La temperatura es un factor crítico en la formación de un determinado PAH. Badger y col, utilizando butilbenceno como intermediario en la producción de benzo(a)pireno, dependiendo de la temperatura se puede producir benzo(a)pireno o benzo(b)fluoranteno, considerando que un control estricto de la temperatura puede reducir la formación de un determinado compuesto.

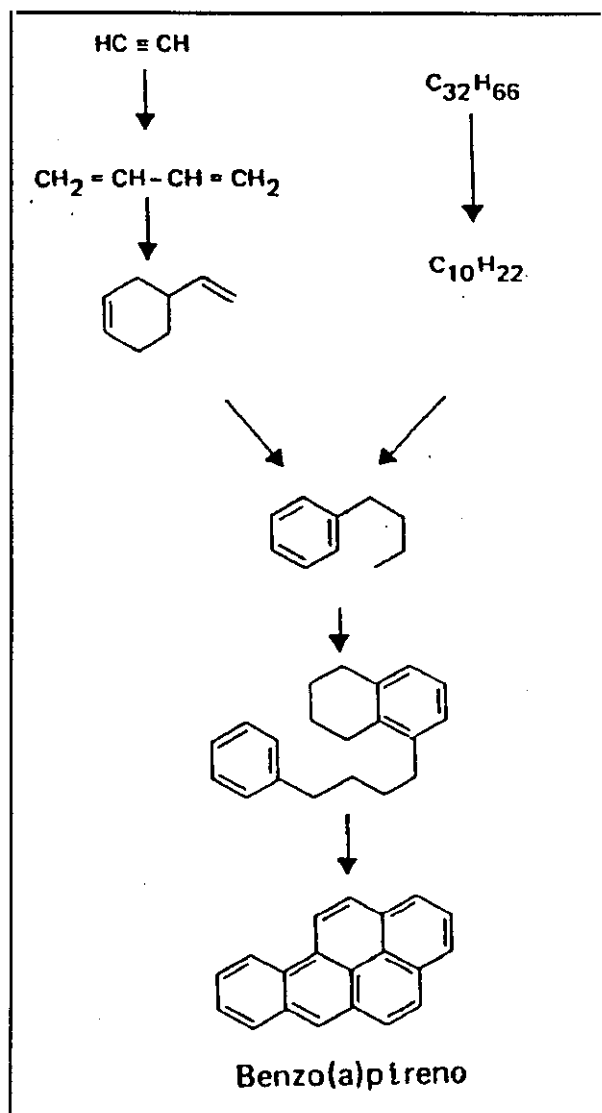


Figura 3.- Síntesis de Benzo(a)pireno según Badger (44).

Boebel encontró que en una atmósfera con alto porcentaje de aire se producía benzo(a)pireno aunque en menor proporción que en atmósferas pobres en oxígeno (45).

En atmósferas inertes de N_2 y a 700°C , un gramo de glucosa, tabaco seco

y parafina producen 886 ng, 752 ng y 66,600 ng de benzo(a)pireno respectivamente.

En similares condiciones, un gramo de tabaco produce 44 ng de benzo(a)pireno a 400° C, mientras que ese mismo gramo de tabaco produce 183,500 ng de benzo(a)pireno a 1000° C (46).

Los compuestos aromáticos policíclicos pueden tener su origen tanto en fuentes naturales como antropogénicas.

Las fuentes naturales de los hidrocarburos aromáticos policíclicos están exclusivamente delimitadas a algunos tipos de biosíntesis, degradaciones a largo plazo y combustiones naturales.

En la bibliografía se describen algunos tipos de biosíntesis en algas y bacterias marinas, plantas superiores, etc.(47). Aunque existen discrepancias en cuanto a la veracidad de estas síntesis (48)(49).

Los incendios de bosques y praderas quizá sean una de las mayores aportaciones de PAH's por combustiones naturales, detectándose PAH's en sedimentos de zonas en las que ha habido incendios forestales. Existen datos de emisiones estimadas entre 12 - 14 Tm / año producidas únicamente por los volcanes.

La degradación del material biológico es probablemente el método natural de formación de los PAH's ya que se han encontrado ciertos PAH's en los sedimentos y fósiles procedente de materiales biológicos.

El naftaleno y otros hidrocarburos aromáticos y compuestos organosulfurados pueden haberse producido por reacciones del azufre elemental con terpenoides y esteroides.

El reteno por ejemplo (1 metil-7-isopropilfenantreno), se ha detectado en suelos

en los que existen pinares aparte de producirse también en la combustión de maderas resinosas, piceas o abetos. Este compuesto se emplea como trazador molecular de combustiones (50).

Compuestos con cuatro y cinco anillos se han encontrado en sedimentos, lignitos y en el petróleo cuyas estructuras sugieren que han tenido precursores de tipo hopano.

El perileno se ha encontrado en sedimentos en concentraciones significantes y su formación se ha sugerido ser posible a través de la reducción de pigmentos de tipo quinónico (51)(52).

Las fuentes antropogénicas son las de mayor contribución de los compuestos de este tipo con mayor riesgo para la salud del hombre.

Como fuentes de emisión antropogénicas más características e investigadas podemos citar:

- Combustión del carbón, fuels, gas, madera, etc.
- Plantas industriales y producción de coke.
- Emisiones de automóviles.
- Combustión de basuras, residuos agrícolas y de bosques.

Las emisiones producidas por los vehículos a motor son la mayor fuente de emisiones de PAH's a la atmósfera, representando un 36 % del total anual. La *producción de aluminio y los incendios forestales aportan un 17 % cada una*. Alcanzan un 12 % las emisiones de las calefacciones, un 14 % la producción de coke, un 4 % las centrales térmicas y un 3 % la incineración.

La incineración de aceites lubricantes, que por corresponder a la fase final de los destilados del petróleo, tiene un alto contenido en PAH's, eleva considerablemente la tasa de estos compuestos y en particular en benzo(a)pireno.

Durante la combustión incompleta o pirólisis de las materias orgánicas se forman algunos centenares de PAH's, así por ejemplo hasta el año 1967, en el

alquitrán de carbones se describían 106 PAH's, en el humo de los cigarrillos cerca de 280, hasta 146 PAH's en los gases de escape de los automóviles y en los gases del fuel-oil 108 (sin contar los de dos anillos), habiendo sido estos caracterizados por espectroscopía U.V y espectrometría de masas (46).

Por el momento no ha sido posible totalizar los PAH's emitidos por las fuentes de emisión más frecuentes. Existen no obstante, valoraciones parciales de algunas de estas fuentes.

El factor de riesgo de los PAH's en estas emisiones se mide en relación al benzo(a)pireno, de carácter cancerígeno, emitido y hemos de considerar que un kilo de fuel-oil durante la combustión suministra entre 0.0001 mg y 100 mg de benzo(a)pireno.

En la Tabla 5 viene indicado el porcentaje individual en relación con el benzo(a)pireno de grupos de estas emisiones en la emisión total de los mismos efectuada en EE.UU.

Foco de emisión	Tm/año	%
Emisiones de automóviles	22	2
Combustión de carbón, fuel-oil, gas y madera	475	38
Combustión de basuras, residuos agrícolas y forestales	563	44
Plantas industriales y producción de coke	200	16
TOTAL	1260	100

Tabla 5.- Porcentaje de benzo(a)pireno para diferentes tipos de emisiones.

El intervalo de concentraciones de un determinado PAH varía por tanto considerablemente dependiendo de las fuentes de emisión. Para el caso del benzo(a)pireno, estas concentraciones varían ampliamente como puede observarse en la Tabla 6.

FUENTES DE EMISION	CONCENTRACION (PPM)
Vehículos a motor (túneles)	66 - 500
Combustión del carbón:	
Calefacciones urbanas (antracitas)	10 - 20
Calefacciones urbanas (otros carbones)	240 - 600
Centrales térmicas	0.0007
Centrales térmicas (Fuel-oil)	0.005
Calefacciones urbanas (madera)	
Chimeneas	3 - 141
Horno	213 - 870
Planta de coke	1400 - 5800
Suelo	0.1 - 2.3

Tabla 6.- Concentraciones de benzo(a)pireno en materia particulada medida en diferentes fuentes (53).

La concentración del benzo(a)pireno en la atmósfera es en invierno de cinco a diez veces más alta que en verano y en las zonas urbanas de cinco a veinte veces mayor que en zonas rurales.

El carbón es otro productor importante de energía. El empleo de éste como combustible de las calefacciones se ha incrementado desde 1978 especialmente en Estados Unidos y en los países de la Comunidad Económica Europea.

Las emisiones de benzo(a)pireno por Btu son mayores que para otros combustibles. Estas emisiones son mayores para las calderas residenciales que queman carbón que para grandes calderas (centrales térmicas) que trabajan a altas temperaturas con exceso de aire.

Existen grandes diferencias en cuanto a tipos de carbón empleados e incluso

al tipo de horno en el que se produce la combustión.

En un estudio realizado por Brokhans y col. (46), se muestran, Tabla 7, la cantidades medidas de los hidrocarburos aromáticos policíclicos en los gases procedentes de la combustión para seis tipos de carbones: antracitas, lignito, coke, etc.

Carbones	Antracita bolas	Lignito briquetas	Antracita	Coke	Antracita tipo anzit	Antracita t.extrazit
Fluoranteno	376.5x10 ³	69.7x10 ³	86.6	-	3904.0	8.3
Pireno	86.6x10 ³	15.4x10 ³	24.9	1.7	129.7	4.4
Benzo(a)antraceno	159.0x10 ³	20.9x10 ³	69.3	8.7	1819.0	4.5
Criseno	163.3x10 ³	15.5x10 ³	109.5	18.5	3490.0	17.7
Benzo(b)fluoranteno	205.1x10 ³	14.5x10 ³	163.5	71.2	1871.0	15.8
Benzo(k)fluoranteno	66.9x10 ³	3.2x10 ³	27.0	6.7	25.8	0.6
Benzo(e)pireno	197.8x10 ³	34.3x10 ³	192.0	1152.0	677.2	32.1
Benzo(a)pireno	64.9x10 ³	5.0x10 ³	11.8	10.2	2.2	0.5
Perileno	138.5x10 ³	12.5x10 ³	22.9	17.4	140.0	-
Dibenzo(ah)antraceno	22.6x10 ³	10.2x10 ³	12.5	-	53.8	-
Benzo(g,h,i)perileno	95.9x10 ³	20.2x10 ³	27.0	120.6	73.0	5.1
Coroneno	40.5x10 ³	6.3x10 ³	7.6	5.8	11.1	1.6
Total PAH's	1618x10 ³	227.4x10 ³	754.6	1412	12.2x10 ³	110.6

Tabla 7.- Concentración de PAH's en ng/m³ en la combustión de diferentes tipos de carbón.

Las fuentes de emisión de los hidrocarburos aromáticos policíclicos pueden en principio ser conocidas a través de las diferentes proporciones de los PAH's emitidos. Los primeros intentos para identificar las fuentes de contaminación fueron realizados por Sawicki y más recientemente por Grimmer y cols (54).

En estos estudios observaron que las proporciones entre algunos PAH's eran diferentes dependiendo del foco emisor. El benzo(e)pireno (BeP) es un hidrocarburo que se emplea como hidrocarburo tipo y se utiliza para obtener un índice de referencia de los demás PAH's dividiendo la concentración de éstos por la concentración de benzo(e)pireno. La elección entre otros de éste compuesto obedece a varios tipos de consideraciones, fundamentalmente debido a su estabilidad ya que reacciona en la atmósfera muy lentamente y porque se encuentra exclusivamente en forma particulada (55).

También se han ensayado algunos otros compuestos con este mismo fin de poder utilizarlos como índices de referencia como son los benzofluorantenos, pero tienen el inconveniente de ser menos abundantes y más difíciles de ser resueltos cromatográficamente, ya que se trata de tres isómeros de los cuales el benzo(k)fluoranteno y el benzo(j)fluoranteno son difícilmente separables por cromatografía capilar, en tanto que mediante esta técnica se separan fácilmente benzo(a)pireno de benzo(e)pireno. En el estudio realizado por Grimmer encuentra grandes diferencias en el cociente PAH's / BeP. Un ejemplo de este tipo de relaciones está recogido en la Tabla 8.

Pueden observarse diferencias importantes como las obtenidas para el ciclopentano(cd)pireno que es francamente diferente para las emisiones producidas en un túnel a causa del tráfico de vehículos, de las producidas por la combustión del carbón o del petróleo. También son significativas las diferencias obtenidas para el benzo(g,h,i)perileno y coroneno que indican que estos hidrocarburos está íntimamente asociados con las emisiones producidas por los vehículos a motor.

Otros autores han tratado de determinar diferentes índices relativos de disminución o de degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos basados en diferencias de sus concentraciones diurnas en áreas urbanas medidas en cortos períodos de tiempo (una hora), donde se pueden estudiar parámetros relacionados con la concentración como son temperatura, radiación solar, altura de la zona de mezclado de contaminantes, velocidad del viento y reacciones de fotodegradación por oxidantes (56).

Relación PAH's / Benzo(e)pireno	Tráfico en túneles	Area residencial: Calderas		
		Carbón	Fueloil	Coke
Antraceno	2.2	0.4	0.6	0.3
Benzo(c)fenantreno	2.2	0.4	0.6	0.3
Benzo(a)antraceno	1.2	1.4	1.0	1.2
Ciclopenta(c,d)pireno	5.3	0.02	0.4	0.4
Criseno	1.8	2.5	2.6	1.8
Benzo(b)fluoranteno	1.2	1.4	1.7	1.3
Benzo(k)fluoranteno	1.0	1.2	1.5	1.0
Benzo(j)fluoranteno	Difícil de resolver cromatográficamente			
Benzo(e)pireno	1.0	1.0	1.0	1.0
Benzo(a)pireno	1.2	0.6	0.9	1
Perileno	0.2	0.08	0.25	0.3
Benzo(g,h,i)perileno	1.8	0.7	1.0	0.6
Indeno(1,2,3-cd)pireno	0.8	0.6	1.0	0.6
Coroneno	0.9	0.2	0.3	0.08
Antrantreno	0.5	0.07	0.3	0.07
Benzo(b)nafto(2,1-d)tiofeno	0.5	0.6	0.7	0.35

Tabla 8.- Relación PAH's / Bezo(e)pireno.

Sicre y cols (57) han extraído de la bibliografía datos para confeccionar una serie de índices de fuentes establecidas y bien estudiadas y a través de los cuales es posible acceder con facilidad a las fuentes de los distintos PAH's. Tabla 9.

	Fenantreno/ Fen + Antraceno	Fluoranteno/ Fl + Pireno	B(a)A/ B(a)A + Cris + Trifenileno	B(e)P / B(e)P + B(a)P	Ind(1,2,3,cd)P/ Ind(1,2,3,cd) + B(g,h,i)P
Petróleo	≈ 0.98	0.18 ± 0.06	0.16 ± 0.12	0.87 ± 0.11	-
Aceite motor usado	≈ 0.78	0.36 ± 0.08	≈ 0.5	0.64 ± 0.10	0.25 ± 0.05
Emisiones gasolina	0.77 ± 0.12	0.43 ± 0.08	-	0.53 ± 0.05	0.18 ± 0.03
Partículas: combs.madera	-	-	0.40 ± 0.03	0.38 ± 0.08	0.62 ± 0.07
Partículas: combs.carbón	-	-	0.48 ± 0.09	0.30 ± 0.08	0.57 ± 0.12
Combustión lignito	-	0.56 ± 0.03	0.40 ± 0.02	0.51 ± 0.07	0.47 ± 0.09
Calefacciones urbanas:carbón	≈ 0.66	≈ 0.52	≈ 0.39	≈ 0.48	≈ 0.55
Hornos coke	0.67 ± 0.11	0.51 ± 0.06	0.43 ± 0.05	≈ 0.23	-
Combustión antracita	-	0.58 ± 0.02	0.43 ± 0.04	0.43 ± 0.06	0.52 ± 0.05

Tabla 9.- Índices de correlación de PAH's con sus fuentes emisoras.

En muchos casos estos índices serán sólo indicativos, ya que en emisiones urbanas en las que intervengan simultáneamente distintas fuentes, estos índices se desplazarán dependiendo de la intensidad de un determinado foco de emisión.

1.4.3. Actividad cancerígena y carácter de riesgo de los PAH's

Los estudios iniciales sobre la composición química de los productos de combustión se llevaron a cabo hace ya varias décadas y en esos tiempos, muchos

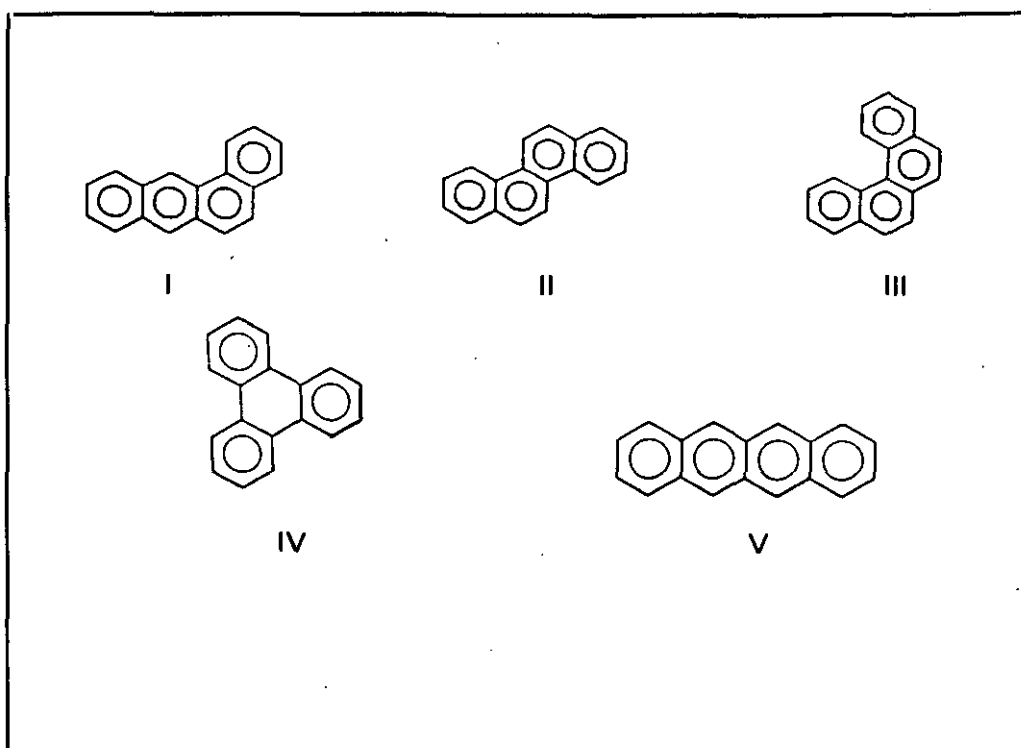


Figura 4.- Isómeros estructurales de cuatro anillos.

PAH's fueron ya aislados e identificadas sus estructuras. Pruebas subsiguientes biológicas de estos compuestos aislados y sintéticos han llegado a la evidencia de su poder cancerígeno.

La actividad cancerígena de cada uno de estos compuestos depende de su estructura molecular, así por ejemplo existen cinco isómeros estructurales para la serie de cuatro anillos con peso molecular 228 (Figura 4). De estos cinco compuestos el benzo(a)antraceno (I), crseno (II), benzo(c)fenantreno (III), presentan actividad cancerígena mientras que el trifenileno (IV) y el naftaceno(V) no la poseen.

La localización de un grupo alquilo en la molécula de los PAH's puede jugar también un papel esencial en su actividad ya que tal sustitución puede alterar la distribución electrónica dentro de la molécula y puede dar origen a un efecto

activador o desactivador. Así tenemos el ejemplo del metilfenantreno del que son mutágenos el 1 y el 9 metilderivados, no siéndolo el resto de los metilderivados posibles. Así mismo dentro de la serie de los metilcrisenos, se ha encontrado una fuerte dependencia del poder cancerígeno de la posición del grupo metilo, siendo el 5-metilcriseno más activo que el criseno y que el resto de los derivados metilados de éste (58).

No se conoce realmente como se inicia el proceso canceroso una vez que los PAH's se encuentran en el organismo. Las investigaciones se han dirigido hacia las interacciones que tienen lugar entre los constituyentes celulares y los PAH's. Estudios in vivo e in vitro han puesto de manifiesto que estos compuestos se unen al ADN, ARN y a las proteínas. Debido a la elevada densidad electrónica de los PAH's, existe la posibilidad de formación de enlaces covalentes entre estos compuestos y las biomoléculas. Para que estas uniones se lleven a cabo, es necesario que previamente tenga lugar una transformación en la que concretamente el benzo(a)pireno es metabolizado a su homólogo 7,8 diol-9,10 epóxido.

Según Ames, los PAH's no exhiben una mutagenicidad directa (son inactivos) y solamente presentan esta característica cuando son activados por vía enzimática (59).

Para detectar la mutagenicidad de tóxicos como los que se encuentran en la materia particulada orgánica existen más de 100 tipos de bioensayos a corto plazo, utilizándose desde células de bacterias y fagos hasta células humanas.

Uno de los más empleados es el test de B.Ames, que emplea la bacteria *Salmonella typhimurium*, que constituye un ensayo rápido (aproximadamente tres días) y barato para detectar mutaciones.

Por medio de este método se han ensayado gran cantidad de compuestos químicos y se han catalogado sus actividades mutagénicas en el Environmental Mutagen Center (EMIC) (60).

A través de investigaciones epidemiológicas se ha comprobado la causa de enfermedades de tipo canceroso la constituyen agentes exógenos. Sin embargo la existencia de estos factores sólomente ha sido demostrada para algunos tipos de cáncer. Como ejemplo, existe correlación probada entre el hábito de fumar y la formación de tumores malignos en el sistema respiratorio. Así, el Departamento de Epidemiología y Estadística de Sociedad Americana para el Cáncer, basándose en estudios epidemiológicos, estima que el 82.7 % de los casos de cáncer de pulmón en varones puede ser debido al tabaco, el 17.3 % restante se debe a causas no definidas, entre ellas a atmósferas contaminadas y los lugares de trabajo (producción de coke y asbesto, etc).

Grimmer (61)(62) ha estudiado la actividad biológica de los extractos procedentes de gases de escape de automóviles separándolos en tres fracciones: la primera constituida por alcanos fundamentalmente y libre de compuestos aromáticos, representa un porcentaje del 82.8 % del total; la segunda fracción, integrada por compuestos aromáticos con menos de tres anillos, representa un 13 %; y la tercera con compuestos aromáticos de tres anillos en adelante, solo contiene el 3.5 % del total del porcentaje de masa.

Se ha obtenido que la fracción aromática con mayores condensaciones presenta una actividad mutágena del 60% siendo menor del 10% la fracción libre de compuestos aromáticos; la fracción correspondiente a compuestos con dos o tres anillos sólo tiene una actividad menor del 5%.

En extractos procedentes de los motores diesel la fracción de PAH's también debe su actividad biológica a derivados oxigenados, especialmente los nitroderivados, estimándose que estos presentan entre el 20 - 50 % de la actividad mutagénica total de los extractos de diesel cuyo porcentaje de masa solo es del 0.01.

El poder cancerígeno de los PAH's ha sido observado principalmente en los compuestos tri, tetra, penta y hexacíclicos, entre los PAH's que tienen más de seis

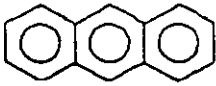
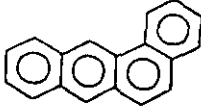
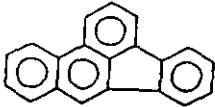
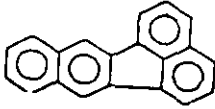
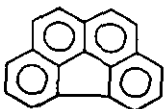
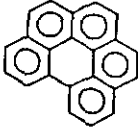
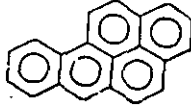
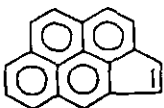
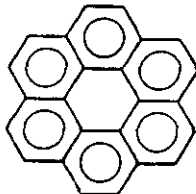
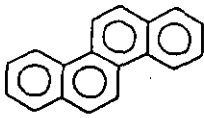
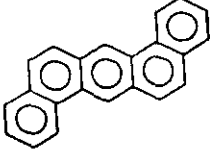
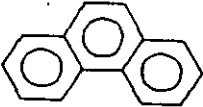
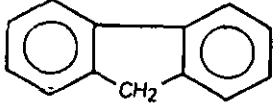
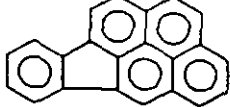
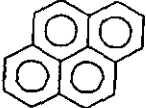
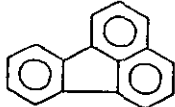
		
ANTRACENO (-)	BENZO(a)ANTRACENO (+)	BENZO(b)FLUORANTENO (++)
		
BENZO(k)FLUORANTENO (++)	BENZO(g,h,i)FLUORANTENO (+)	BENZO(g,h,i)PERILENO (+)
		
BENZO(a)PIRENO (+++)	CICLOPENTA(c,d)PIRENO (+)	CORONENO (-)
		
CRISENO (+)	DIBENZO(a,h)ANTRACENO (+++)	FENANTRENO (-)
		
FLUORENO (-)	INDENO(1,2,3-c,d)PIRENO (+)	PIRENO (-)
<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; display: inline-block;"> No cancerígeno (-) Poder cancerígeno (+ a +++) </div>		
		
		FLUORANTENO (-)

Tabla 10. Estructura y poder carcinógeno de los PAH's más representativos en el aerosol .

anillos, solo se ha encontrado poder cancerígeno en unos pocos. Los motivos de esta limitación en los PAH's de mayor número de anillos no están claros aunque se cree que su escasa solubilidad pueda ser una de las causas.

En la Tabla 10 viene indicada la actividad carcinógena y la estructura correspondiente a los PAH's más representativos señalados por la EPA como prioritarios e incluso dentro de los métodos que estamos considerando en este estudio.

1.4.4. Fotodegradación y permanencia de los PAH's

Está ampliamente demostrado por la comunidad científica que los compuestos orgánicos polinucleares presentes en los aerosoles son susceptibles de sufrir transformaciones fotoquímicas en presencia de la luz solar (63).

Para corroborar estas afirmaciones se han desarrollado estudios de laboratorio en atmósferas artificiales partiendo de mezclas sintéticas de compuestos orgánicos o procedentes de partículas de hollín de combustiones de diferentes procedencias, gas-oils, madera, etc. Estas partículas han sido sometidas a la acción de la luz ultravioleta de lámparas de mercurio y xenon a fin de poder predecir que tipo de reacciones pueden tener lugar. El tipo de sustrato así como el color del mismo va a tener una gran influencia en la velocidad de degradación, ya que se ha comprobado que PAH's asociados con partículas cuyo contenido carbonoso es superior al 20 % ofrecen una degradación media entre 125 - 263 horas, mientras que para PAH's depositados sobre alúmina o gel de sílice la velocidad de degradación oscila entre 0.4 y 156 horas (64)(65)(66).

También se ha comprobado que los PAH's pueden degradarse por ozonólisis. En estudios realizados con ozono se ha observado que la vida media del benzo(a)pireno y el antraceno son relativamente cortas, para el benzo(e)piréno y pireno

intermedias y para los benzofluorantenos más largas, 12 minutos para el antraceno y 70 minutos para los benzofluorantenos. El benzo(a)pireno sometido a este tratamiento produce las 1,6; 6,12 y 3,6 quinonas derivadas del benzo(a)pireno. Estos compuestos obtenidos en laboratorio también se han detectado en la atmósfera de Alemania, Escandinavia y Toronto (67)(68).

La temperatura es un factor importante en la eliminación de PAH's asociados a las partículas. Kamens y cols.(69) observaron este tipo de pérdidas encontrando que a 20° C existe una disminución apreciable de PAH's cuya desaparición fue estimada entre 30 y 60 minutos, por el contrario, a 0° C esta estabilidad puede extenderse a varias horas e incluso días.

Durante el período invernal en que la atmósfera suele encontrarse a temperaturas bajas, y la inclinación solar es mayor se hace posible que exista una más alta permanencia de los PAH's en la atmósfera.

En climas moderados como es nuestro caso, donde los inviernos son suaves, los PAH's pueden sufrir diferentes tipos de degradaciones dependiendo de la temperatura y de la radiación solar.

1.4.4.1. Derivados nitrados de los PAH's

En la materia particulada se ha visto que además de los PAH's existen derivados nitrados que presentan actividad mutágena, en concreto, en partículas diesel el 40 % de esta actividad mutágena se debe a los nitroderivados de los PAH's (70).

Las primeras pruebas de la existencia de nitro-PAH's en la materia particulada orgánica comprobado mediante espectrometría de masas se deben a Ramdahl (71).

La presencia de compuestos nitrados de los PAH's se ha detectado en atmósferas tanto rurales como urbanas. Estas transformaciones de PAH's en sus correspondientes nitroderivados pueden ocurrir durante el transporte cuando éstos se ven sometidos a la acción de los agentes nitrantes. Nielsen (72) ha detectado la presencia de siete mononitroderivados de los PAH's, fundamentalmente del antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, y benzo(a)pireno. Las concentraciones generalmente son de uno o dos órdenes de magnitud menor que sus PAH's homólogos.

En experimentos desarrollados en el laboratorio se ha comprobado que algunos PAH's, así como algunos PAH's sustituidos, pueden ser transformados en nitroderivados en atmósferas artificiales por reacción con el NO_2 y el HNO_3 (73).

La transformación de PAH's en nitroderivados tiene lugar por medio de radicales. Los radicales (74) que intervienen en estas reacciones son fundamentalmente el NO_3 y el N_2O_5 ; el NO_3 se forma mediante la acción del ozono.

Pitts, Zielinska y colaboradores (72)(75)(76)(77), de la Universidad de California, han estudiado las reacciones de los PAH's con diferentes radicales nitrogenados tanto en atmósferas artificiales como reales y la caracterización de nuevos nitroderivados de los PAH's.

Bayona y col., en un extracto polar de un material particulado preparado por el NBS (National Bureau Standards), procedente de motores diesel y empleando cromatografía de alta resolución, espectrometría de baja y alta resolución, por medio de (EI) impacto electrónico, e ionización química, ha identificado alrededor de 80 compuestos policíclicos constituidos por anhídridos, carboxialdehídos, diazaarenos, imidas cíclicas, nitrohidroxiderivados, nitroazaderivados, nitrolactonas, etc (78).

1.5. EFECTOS DE LOS PAH'S SOBRE LA SALUD.

La existencia de compuestos químicos que podrían inducir a enfermedades profesionales ya fueron observadas por sir Percival Pott que en 1776 advirtió que existía una correlación de la aparición de cáncer de escroto con los trabajadores dedicados a la limpieza de chimeneas. Consideró que podrían existir en el hollín de las chimeneas determinados compuestos químicos capaces de inducir este tipo de enfermedad, dándose además la circunstancia de que malas prácticas higiénicas propiciaban la permanencia de las partículas de hollín sobre la piel de los trabajadores.

Así mismo se han descrito numerosos estudios de enfermedades de piel en trabajadores potencialmente expuestos a estos compuestos en industrias relacionadas con el petróleo y el carbón.

Como ya se ha comentado en puntos anteriores, las partículas procedentes de la combustión de los motores diesel son sobre las que se han realizado un mayor número de experiencias para investigar la acción cancerígena de las emisiones de este tipo de motores.

Se han mostrado de gran utilidad experimentos consistente en la inhalación por parte de animales de experimentación, ratas, ratones y hamsters, de gases procedentes de los motores diesel, ya que la forma de exposición a los mismos es similar para el caso del hombre.

En algunos ensayos se ha comprobado que a dosis medias y altas se registra un incremento de tumores, existiendo un umbral de 0.75 mg/m^3 por debajo del cual los efectos no aparecen, en tanto que los niveles urbanos de concentración de partículas pueden variar entre 0.0002 y 0.002 mg/m^3 (79).

Si los gases inhalados se filtran, no aparecen carcinomas, lo que indica que

son las partículas los agentes precursores de estos tumores. En el transcurso de las investigaciones se observó que los pulmones de los individuos expuestos a los gases presentaban inicialmente una decoloración apareciendo a continuación una coloración marrón oscura que llegaba al negro en algunos casos, producida por la colmatación causada por las partículas en los alveolos.

Dado el extraordinario interés de los estudios de carcinogénesis de las emisiones diesel, se han desarrollado estudios epidemiológicos sobre trabajadores expuestos a la inhalación de humos de este tipo. Los grupos ocupacionales más estudiados han sido los conductores de transporte londinense, los trabajadores del ferrocarril de Estados Unidos y Canadá y los conductores de taxis y camiones de Londres y otras ciudades.

P. Grasso (79) ha recopilado varios estudios realizados en estas poblaciones expuestas, de los que en algunos casos los estudios epidemiológicos derivados se encuentran aún en fase de síntesis, siendo algunos de ellos poco concluyentes lo que hace necesaria la realización de estudios más profundos. No obstante, sugiere la posibilidad de una mayor incidencia de cáncer de pulmón en personas ocupacionalmente expuestas a las emisiones diesel. Este riesgo es de cualquier forma extremadamente pequeño aún en grupos altamente expuestos comparados con el resto de la población.

Como consecuencia de los datos de que se dispone de las concentraciones de B(a)P, PAH's cancerígenos y total de PAH's (en el aire), se admite que la población humana puede estar expuesta a 0.5 ng/m^3 , 2.0 ng/m^3 y 10.9 ng/m^3 respectivamente, y teniendo en cuenta que la cantidad de aire inhalado por el hombre a diario se estima entre 15 y 23 metros cúbicos, la ingesta diaria para este tipo de compuestos correspondería a $0.005\text{-}0.0115 \text{ } \mu\text{g/día}$ de B(a)P, $0.03\text{-}0.046 \text{ } \mu\text{g/día}$ para PAH's cancerígenos y $0.165\text{-}0.251 \text{ } \mu\text{g/día}$ para el total de los PAH's (80). Estos datos corresponden a las estimaciones de las medias anuales en la ciudad de Los Angeles.

Los compuestos aromáticos policíclicos en partículas figuran en los valores TLV's (threshold limit values) o valores umbral para sustancias químicas en el medio ambiente de trabajo como A2 o compuestos sospechosos de ser cancerígenos para el hombre por evidencias epidemiológicas. Para este tipo de compuestos deben ser cuidadosamente controladas las vías de penetración a niveles tan bajos como razonablemente se puedan alcanzar por debajo del valor (TLV-TWA) que es 0.2 mg/m^3 o media ponderada en el tiempo para una jornada de trabajo de 8 horas (81).

1.6. COMPUESTOS AROMÁTICOS POLIHETEROCÍCLICOS.

Los compuestos aromáticos heterocíclicos con nitrógeno son bastante numerosos y se han detectado más de ciento cincuenta en la atmósfera, en forma de gases, minoritariamente y de forma más abundante en el aerosol. Proceden de las combustiones incompletas de los combustibles fósiles de forma análoga a sus homólogos PAH's, también en la combustión de materia orgánica (biomasa) y combustión del tabaco donde se han detectado un elevado número de compuestos. Se generan en la combustión de sustancias que contienen nitrógeno o bien sustancias orgánicas en presencia de NO_x .

Ya en 1975 Dong (82) identificó veinte n-heterociclos en el aerosol de Nueva York, en concentraciones de nanogramos / m^3 . Algunos aza-arenos como el carbazol ha sido detectado en aerosoles y humo de tabaco (83)(84). Algunos de ellos tienen mayor importancia, como la benzo(a)acridina y las dibenzoacridinas (35) que presentan elevada actividad cancerígena.

Igualmente se han detectado en la atmósfera como constituyentes del aerosol compuestos heterocíclicos con azufre, tanto en forma gaseosa como particulada, no obstante, estos compuestos son menos abundantes que los derivados heterocíclicos del nitrógeno y se producen en la combustión de combustibles que

contienen azufre. Hay poca información a cerca de estos compuestos, no obstante, se han detectado tiofeno, tetrahidrotiofeno que reaccionan con el radical OH. También se ha detectado en la combustión del carbón y diesel benzotiofeno y dibenzotiofeno (84). El benzo(b)nafto[2,1-d]tiofeno (84)(85) se ha encontrado en muestras de aerosoles relacionados con los motores diesel.

2. ESTUDIO DE LAS METODOLOGIAS ACTUALMENTE UTILIZADAS

2.1. MUESTREO Y CONCENTRACION

2.1.1. Estudio bibliográfico.

REVISION BIBLIOGRAFICA			
METODO	FUNDAMENTO	APLICACION	BIBLIOGRAFIA
SEDIMENTACION	Fuerza remota externa sobre las partículas originando un movimiento hacia la superficie de recolección.	Partículas entre 0.003 - 7 micras	Hesketh H.E.1986(106) Pio C.A.1986(86) Theodore L.1988(105)
PRECIPITACION	Basados en principios de termoforesis y atracción electrostática	Partículas entre 0.005 - 5 micras	Finlayson-Pitts P.J. 1986(103) Hesketh H.E.1986(106)
IMPACTACION	Aplicación de la inercia de las partículas	Posibilidad de separación por tamaños. > 0.3 micras	Hering S.V.1979(121) Sentamaria J.1988(5) Marple V.A.1990(122)
FILTRACION	Retención de partículas por interceptación, difusión, fuerzas electrostáticas y gravitacionales en filtros de fibra de vidrio, teflón, cuarzo o membranas.	Partículas > 0.003 micras.	U.S.Fed.Reg.1982(110) U.S.Fed.Reg.1987(119) Fitz D.R.1983(115) Walter J.1989(16)
ADSORCION	Adsorción de compuestos orgánicos (Ley de Languemuir) en Tenax, PUF, Amberlitas(XAD-2), Chromosorb, Carbón, etc	Compuestos orgánicos en fase vapor. Alcanos, PAH's, PCB's, Hidrocarburos clorados, etc.	Cautreels W.1978(91) Threne K.E.1981(125) van-Vaeck L.1984(140) Walling J.F.1986(133) Knecht U.1987(124) Pyysalo H.1987(126) Masclet P.1988(141) McVeety B.1988(196)

Tabla 11.- Muestreo y concentración. Resumen bibliográfico

2.1.2. Introducción

La calidad de un análisis está altamente condicionada por las diferentes etapas a seguir en el muestreo y preparación de la muestra, de aquí que todo programa de investigación considere como primer objetivo, el desarrollo de la metodología para un muestreo real y efectivo que pueda conducir a una análisis adecuado y preciso.

Los contaminantes atmosféricos suelen presentarse en concentraciones de órdenes de magnitud tan pequeños ($10^{-10}\%$) que la sensibilidad de los métodos analíticos no siempre puede alcanzar, dificultando su análisis directo. Es preciso por tanto en la mayoría de los casos, hacer concentraciones previas de estas sustancias.

El muestreo ambiental puede ser definido como la recolección de muestras de aire en un área determinada expuesta a la atmósfera (86).

El tipo de muestreo a efectuar y las técnicas o metodologías empleadas en éste vienen siempre condicionadas por un determinado programa de investigación con objetivos definidos y por unos criterios consecuentes regidos por un número específico de parámetros.

Son numerosos los objetivos que enmarcan un programa de muestreo, pero entre todos ellos podemos destacar como más generalizados los siguientes:

- a) El conocimiento de los efectos tanto ambientales como sociales.
- b) El estudio de la influencia de las fuentes de emisión específicas en la calidad del aire.
- c) El control de la polución.
- d) Diferentes programas de investigación enfocados ya sea a la iden-

tificación de contaminantes, a sus fuentes o al estudio de las reacciones que se producen en la atmósfera.

Por último, y como consideración de suma importancia podemos indicar que la clase química de los contaminantes a muestrear y las propiedades físico-químicas de los mismos son los condicionantes básicos para hacer una correcta elección del método de muestreo.

Dado que este trabajo va a estar enfocado hacia los contaminantes orgánicos ambientales y como hemos ya indicado este tipo de contaminantes no se encuentran en el medio ambiente como sustancias aisladas sino formando parte de la materia particulada cuyo fundamental constituyente en nuestro estudio es el aerosol, pondremos un especial interés en las metodologías y técnicas de captación referidas a éste.

2.1.3. Parámetros básicos

Son numerosos los parámetros básicos que intervienen en el muestreo ambiental, desempeñando algunos de ellos papeles fundamentales en la obtención de resultados válidos. Para su estudio los agruparemos siguiendo unos criterios consecuentes al proceso de muestreo.

Criterios meteorológicos

Existe una serie de factores de gran importancia que influyen poderosamente en el muestreo de contaminantes atmosféricos.

Los fenómenos atmosféricos desempeñan un papel importante en la

determinación de la calidad del aire ambiental. Las fluctuaciones tanto diurnas como estacionales en las fuentes de emisión vienen reflejadas en los niveles de contaminación ambiental. Este efecto se incrementa así mismo con las variaciones en las condiciones meteorológicas.

Los parámetros meteorológicos de mayor significación son: la estabilidad atmosférica, velocidad y dirección del viento y la precipitación. La temperatura, la humedad y la radiación solar pueden así mismo ejercer una gran influencia (87).

La estabilidad atmosférica es función de las variaciones que sufre el aire al comportarse como un gas comprensible. Cuando se calienta por la proximidad de la superficie de la tierra asciende y se enfría, volviendo a descender nuevamente, implicando este fenómeno una dispersión de contaminantes. Pero cuando se produce una inversión térmica, es decir cuando se coloca una capa de aire frío debajo de una caliente, se impide este movimiento vertical quedando los contaminantes atrapados. Si este estancamiento está unido a largos períodos de insolación pueden aparecer fenómenos fotoquímicos y generarse contaminantes secundarios.

La velocidad del viento y su dirección afectan directamente al desplazamiento y a la dispersión de los contaminantes de sus fuentes de emisión dentro de una determinada área de estudio, habiéndose encontrado que los niveles de polución son función inversa de la velocidad del viento (88).

La precipitación en sus diferentes variantes: lluvia, nieve, granizo, etc; conlleva un efecto de barrido de partículas y gases de la atmósfera obteniendo como resultado final una disminución de contaminantes previa a su dispersión (89)(90).

Otros factores como la radiación solar y la temperatura tienen una influencia directa en la captación de partículas y fundamentalmente en la captación de compuestos orgánicos asociados a la materia particulada.

La temperatura juega un papel fundamental en el equilibrio que llega a establecerse durante el fenómeno de captación de los compuestos orgánicos en filtros, entre la fase gaseosa y la particulada ya que la presión de vapor de los mismos es función de esta variable y de su correspondiente peso molecular. Este parámetro, la temperatura, es pues el responsable de la utilización de diferentes técnicas de muestreo asociadas (91).

La humedad puede influir negativamente cuando es baja debido a que se produce un incremento de materia en suspensión procedente de polvo superficial.

Altas humedades por el contrario pueden producir nieblas que bloquean la acción solar, siendo capaces de producir inversiones con el consiguiente aumento de contaminantes como ya se ha comentado.

La radiación solar junto con contaminantes como O_3 , NO_x , SO_2 , nitratos de peroxiacilo (PAN) y otros, pueden interaccionar con los PAH por ejemplo para formar productos más polares como son nitro-PAH y oxi-PAH considerados potentes mutágenos (92)(93)(94).

Puntos de muestreo

Es importante definir el lugar más apropiado para el muestreo, así como la situación y número de puntos del mismo. Entra así mismo dentro de estos criterios la frecuencia y duración de la toma de muestra siendo ambos factores casi totalmente dependientes del objetivo que se persigue, de la naturaleza de los contaminantes y de los tipos de fuentes de emisión. No existe sin embargo ninguna normativa patrón de regulación de estos criterios ya que son función del objetivo específico que se pretende conseguir, aunque se han establecido algunas reglas generales de procedimiento en lo que se refiere a los parámetros antes indicados y su "modus facendi" (95).

La duración de la toma de muestra está establecida en períodos de 24 horas reduciéndose de 6 a 8 horas para períodos de alta contaminación. El flujo puede variar entre 18 y 90 m³/hora. Estos flujos y períodos son frecuentes a causa de los bajos niveles de PAH's existentes y a la limitada sensibilidad analítica.

Se pueden fijar períodos continuos de muestreo, pero debido a su elevado coste y a las estrechas diferencias de niveles que se obtienen en similares épocas del año, la frecuencia se puede reducir a una muestra semanal que puede tomarse haciendo rotatorio el día de la semana elegido de una semana a la siguiente.

El captador se situará a 2 metros como mínimo del suelo y alejado de edificaciones, (96)(97). Si las hubiera, el punto más alto de las mismas deberá formar un ángulo con el captador menor de 30° (86).

Cuando se quiera establecer redes de vigilancia en las que sea necesaria una mayor densidad de equipos habrá que establecer métodos estadísticos basados en modelos de difusión y datos meteorológicos de la zona en estudio (98)(99)(100) (101). Así mismo se tendrá cuidado de no situar dos equipos muy próximos para evitar que el aire ya filtrado por el primero sea captado por el segundo (102).

2.1.4. Sistemas de captación

Si definimos el aerosol como una dispersión de partículas sólidas y/o líquidas en un medio gaseoso y consideramos la partícula como una pequeña y discreta masa sólida o líquida, en todo sistema dinámico de captación hemos de tener en cuenta efectos de inercia que conduzcan a desviaciones en función de la corriente de gas y también a una distribución irregular.

Ambos fenómenos evidentemente darán lugar a errores en el muestreo. Existen también en los sistemas de muestreo de aerosoles algunas otras fuentes de error inherentes al fenómeno físico que rige la captación.

Aunque es necesaria la evaluación de las posibles fuentes de pérdidas o cambios en la naturaleza de los compuestos, pueden existir algunas tolerancias dependiendo del análisis posterior que se vaya a realizar y del objetivo en el que está inmerso.

De modo general, el método de captación se basa en el hecho de que las partículas en una corriente de gas son más densas que el fluido (aire) en el que se encuentran suspendidas.

El momento de inercia de la partícula hace que ésta se desvíe cuando ambos, partícula y aire, cambian bruscamente de dirección. A medida que aumenta esta velocidad aumentará la inercia de las partículas y su posibilidad de eliminación de la partícula en cuestión.

A continuación se detallan los sistemas de muestreo que se fundan en la inercia de las partículas más generalizados y sus correspondientes características tales como mecanismos de captación, rangos de diámetro de partícula y algunas otras de posible utilidad.

A partir de estas propiedades realizaremos un estudio pormenorizado a fin de poder seleccionar un sistema adecuado de muestreo en relación con el presente trabajo. En la tabla 12 se detallan estos sistemas de captación.

	MECANISMO FÍSICO	DIAMETRO DE PARTICULA μ	CAUDAL OPERACIONAL	TIPOS
SEDIMENTACION Por gravedad Por centrifugación	Atracción Gravitatoria	> 10	—	Superficies Recolectoras
	Fuerza Centrífuga	0.1 - 10	Diverso	Centrífugas Ciclones
PRECIPITACION Gradiente Térmico Gradiente electrostático	Termoforesis	0.005 - 5	0.007 - 0.02 L/min	Precipitadores: térmicos
	Electroforesis	0.05 - 5	< 1 L/min	Precipitadores: electrostáticos
IMPACTACION Impactadores Barboteadores	Fenómenos inerciales	> 20 - < 0.35	> 35 m ³ /h	Impactadores en cascada
		10 - 2.5 1° y < 2.5 2°	1 m ³ /h	Dicotómicos
		> 2	3 L/min	Barboteadores
FILTRACION	Impactación Intercepción Difusión Atr. electrostática	> 0.003	2 m ³ /24 h 0.5 - 2 m ³ /h > 20 m ³ /h	Bajo volumen Medio volumen Alto volumen

Tabla 12.- Sistemas de Captación de partículas.

2.1.5. Criterios de selección.

Para llegar a la selección del sistema de captación más conveniente para el seguimiento de nuestro trabajo procederemos a hacer un estudio crítico de cada uno de los sistemas de captación indicados anteriormente.

El sistema de captación por sedimentación recoge fundamentalmente partículas sedimentables de diámetro elevado y de escasa utilidad analítica. Este tipo de partículas tiene generalmente un origen natural y son producidas por procesos mecánicos, o bien pueden proceder del spray marino o incluso son resuspendidas del suelo (103)(104)(105)(106).

Los sistemas de captación por precipitación pueden ser por gradiente térmico o electrostático y tienen escasa importancia respecto a la captación de partículas de origen antropogénico que como es sabido son las de mayor contribución a la atmósfera (106). Estos captadores necesitan períodos de muestreo sumamente grandes para captar un número de partículas suficientemente representativo.

En los precipitadores térmicos se produce un gradiente térmico en el que pueden generarse temperaturas entre 90-900° C. A estas temperaturas no sólo se pueden producir "artefactos" sino también alteraciones de muchos compuestos orgánicos. A pesar de todo su eficacia de captación es elevada (107)(108).

Los sistemas de captación por impactación o choque están basados en la inercia de las partículas. En la práctica consisten básicamente en la interposición de una placa en el flujo de aire, siendo tanto mayor el impacto cuanto mayor sea el tamaño de la partícula. La eficacia del método es función directa del diámetro, de la densidad de la partícula y de la velocidad del flujo del aire. Actualmente se emplean impactadores con varias placas con el fin de conseguir una distribución de partículas por tamaños (109).

Para eliminar el posible efecto de rebote o resuspensión de las partículas se suele impregnar con parafina u otra sustancia similar la placa para que puedan adherirse. Se suele eliminar esta cuando se quieren determinar compuestos orgánicos debido a la posible interferencia de la sustancia impregnante. La mayor utilidad y eficacia analítica la presentan este tipo de captadores cuando se asocian con muestreadores por filtración de gran caudal.

El sistema de muestreo por filtración consiste en el paso de una corriente de *aire a través de un filtro, produciéndose la captación de partículas según diferentes mecanismos físicos tales como impactación, intercepción, atracción electrostática o sedimentación.*

En este sistema de captación la eficacia es función del tamaño de la partícula, del flujo y de las posibles reacciones que se puedan producir en la superficie del filtro.

De todos los métodos descritos el de filtración es el más adecuado para medir la materia en suspensión, fundamentalmente, porque los filtros empleados pueden ser utilizados también en un método gravimétrico para conocer la masa total de partículas retenidas. Presenta además la ventaja de que la materia recogida es susceptible de ser sometida a diferentes análisis químicos.

Dependiendo del caudal que pasa a través del captador, los muestreadores pueden ser de bajo volumen cuando el caudal es de $2 \text{ m}^3/24 \text{ h}$, volumen medio entre $0.5\text{-}2 \text{ m}^3/\text{h}$ y alto volumen para caudales superiores a $20 \text{ m}^3/\text{h}$.

Este último es el más utilizado tanto en trabajos de rutina como en los estudios de investigación química del aerosol. Se conoce bajo la denominación de muestreador de alto volumen y se considera como equipo de gran utilidad en el control ambiental. La E.P.A (110) lo ha designado como método de referencia para la determinación de partículas en suspensión en el aire.

2.1.5.1. Descripción de los Equipos de Alto Volumen

Dentro de los captadores de alto volumen podemos distinguir tres tipos de equipos que difieren exclusivamente en el diámetro de las partículas recolectadas.

- A.- Captador de partículas convencional
- B.- Captador de partículas con diámetros inferiores a 10 micras (PM-10)
- C.- Captador con impactador para la distribución de partículas por tamaños.

A. Captador de partículas convencional.

El captador de partículas convencional es un equipo de alto volumen que no separa perfectamente las partículas finas de las gruesas. El punto de corte es superior a 15 nm. Consta de tres partes fundamentales: soporte o cabezal para el filtro, sistema de aspiración y sistema de control de flujo o corriente de aire.

El cabezal suele tener forma de tejadillo con el fin de proteger el filtro del viento y de la lluvia. En su base se sitúa una rejilla metálica para evitar la rotura del filtro por la aspiración durante la toma de muestra. El diseño del cabezal deberá ser capaz de proporcionar un régimen laminar y uniforme de flujo.

En las figuras 5 y 6 se esquematizan dos de los muestreadores de este tipo utilizados en la aplicación práctica de nuestro estudio.

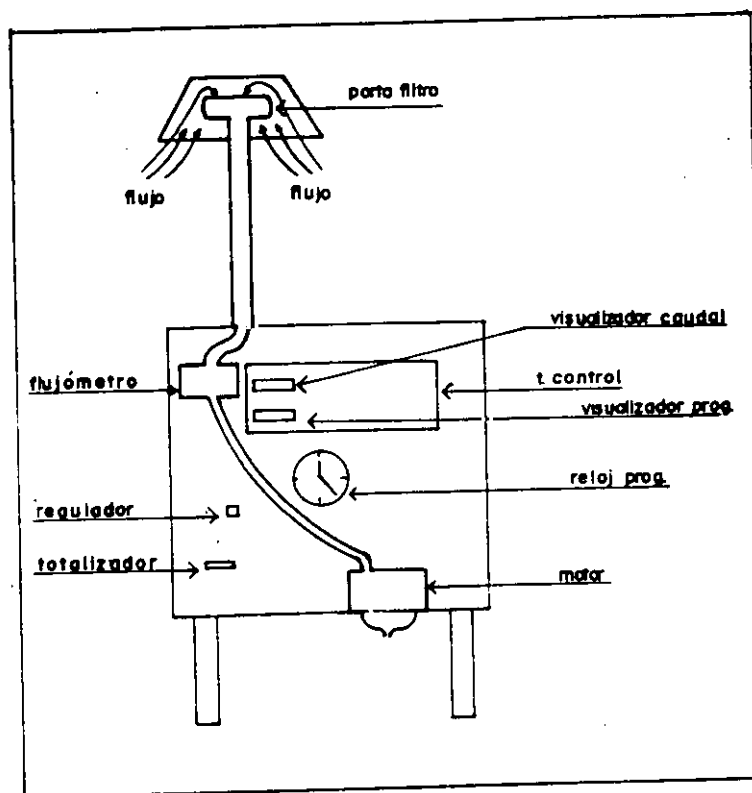


Figura 5.- Captador de partículas tipo MCV.

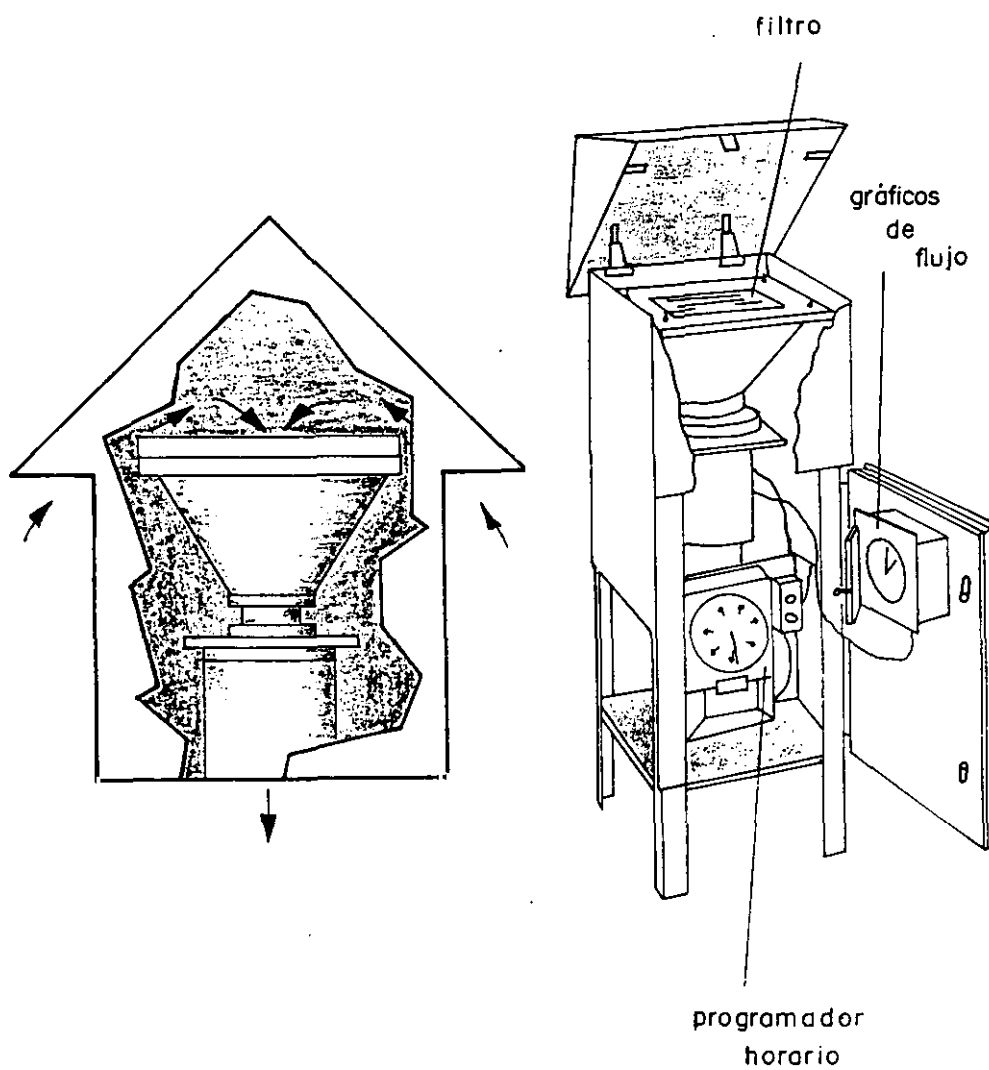


Figura 6.- Captador de alto volumen tipo Sierra Andersen

Las dimensiones del filtro más comúnmente utilizado son de 20 x 25 cm para cabezales rectangulares y de 15 cm de diámetro para cabezales troncocónicos (111)(112)(113)(114).

El sistema de aspiración está formado fundamentalmente por una bomba de aspiración de aire a flujo constante con un caudal de 20 - 100 m³/ hora e incluso caudales mayores, 300 m³/ hora (115).

En relación con el sistema de control de flujo de aire, el equipo mantiene electrónicamente constantes todos los elementos necesarios para un muestreo correcto, siendo en caso contrario expresado en un indicador de fallos.

El sistema de medida de flujo debe ser calibrado cada cierto tiempo para comprobar que las medidas son correctas. Esta operación se efectúa en un banco de calibración.

En países como Estados Unidos tienen establecidas normas de calibración que se encuentran indicadas en su correspondiente boletín oficial (Federal Register) (114).

B. Captador de partículas de alto volumen P.M-10 (116)(117)(118).

Dada la importancia que tienen las partículas finas, como vimos en la introducción por los efectos que producen sobre la salud de la población, la USEPA adoptó un nuevo criterio referido a partículas con un diámetro aerodinámico menor de 10 micras ± 0.5 (PM-10) así como un método de referencia. Este método está basado en la separación de las partículas distintas de 10 micras seguido de una filtración y análisis gravimétrico (119). Un esquema del equipo se representa en la figura 7.

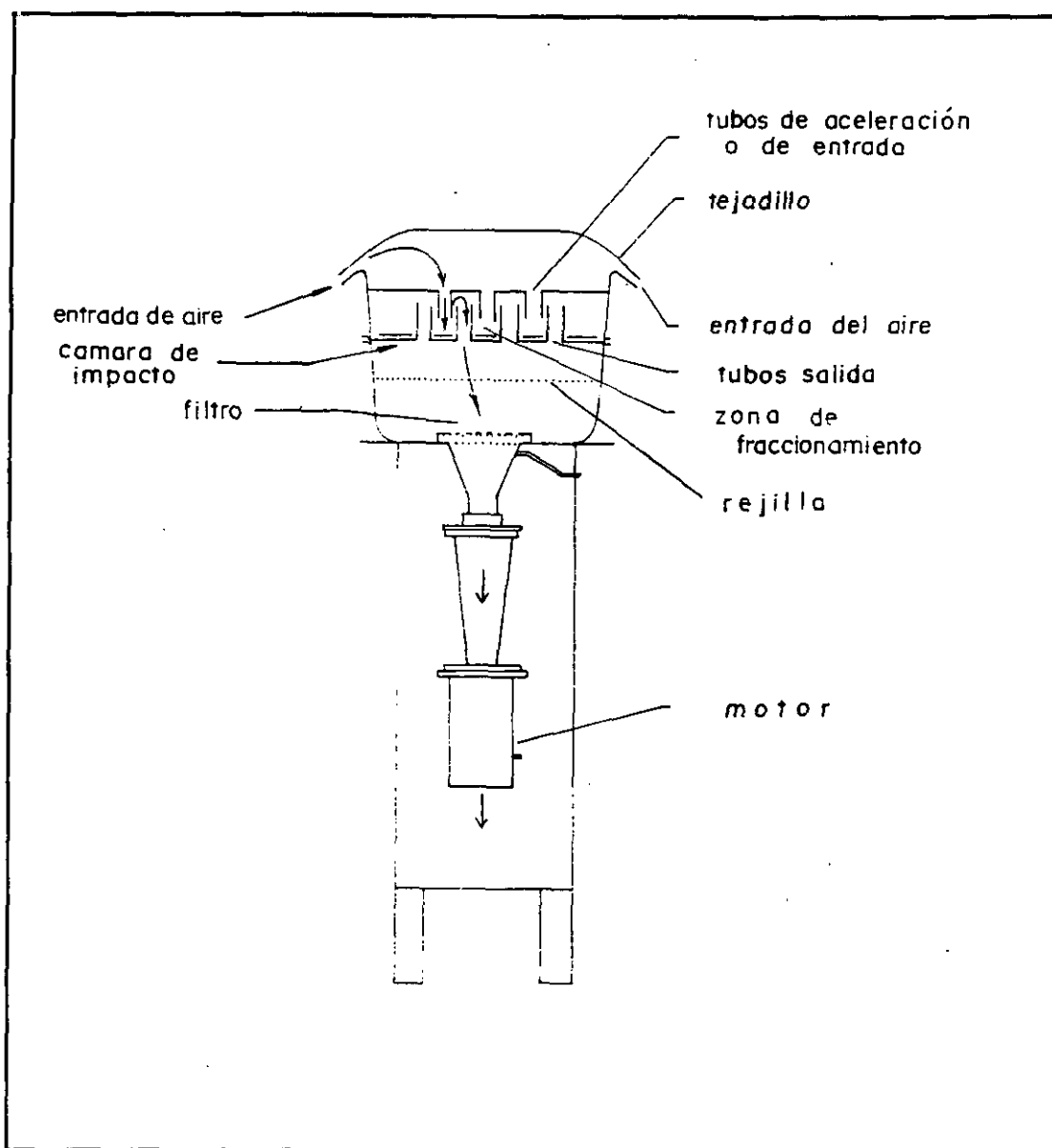


Figura 7.- Diagrama del captador PM-10, modelo Sierra Andersen 1200.

Básicamente solo se diferencia del equipo descrito anteriormente en el cabezal, y su funcionamiento es el siguiente: a medida que el aire se introduce por la ranura de entrada, es conducido al interior de la zona de fraccionamiento por nueve boquillas o toberas de aceleración donde las partículas mayores de 10 micras impactan en la plancha pudiendo estar esta ligeramente engrasada..

El aire que contiene el resto de las partículas (menores de 10 micras) es canalizado a través de otros 16 tubos y posteriormente el aire es filtrado a través de un filtro de fibra de vidrio.

Las boquillas tienen un diámetro crítico y su funcionamiento ha sido comprobado para producir la velocidad necesaria y el fraccionamiento en la cámara de choque.

La velocidad del flujo debe ser tal que mantenga un punto de corte de 10 micras en la cámara, siendo éste de $1.13 \text{ m}^3/\text{minuto}$ ($\pm 10 \%$). El flujo es controlado y mantenido por un controlador volumétrico de flujo. Las dimensiones del filtro recolector son de $20 \times 25 \text{ cm}$.

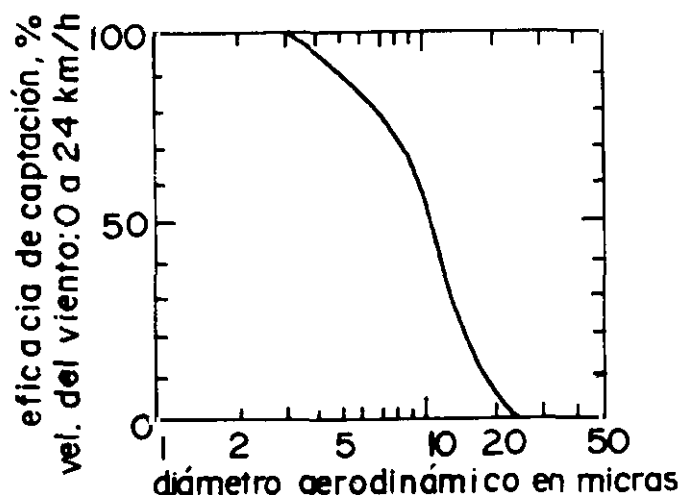


Figura 8.- Eficacia de captación en %.

Según el diagrama de eficacia de este tipo de equipos que se representa en la figura 8, el 100 % de eficacia corresponde a partículas inferiores a 3 micras dentro de un rango extenso de velocidades de viento.

C. Muestreadores de alto volumen con distribución por tamaño de partículas.

Este tipo de muestreadores recibe la denominación de impactadores en cascada (120)(121)(122).

El impactador en cascada está constituido por una serie de etapas o platos de aluminio anodizado para prevenir la corrosión colocados en paralelo provistos de diez rendijas, excepto la primera que tiene nueve, de anchura decreciente entre 0.396 cm y 0.0152 cm para cada etapa. Entre cada una de estas etapas se coloca un filtro también ranurado como el que se muestra en la figura 9.

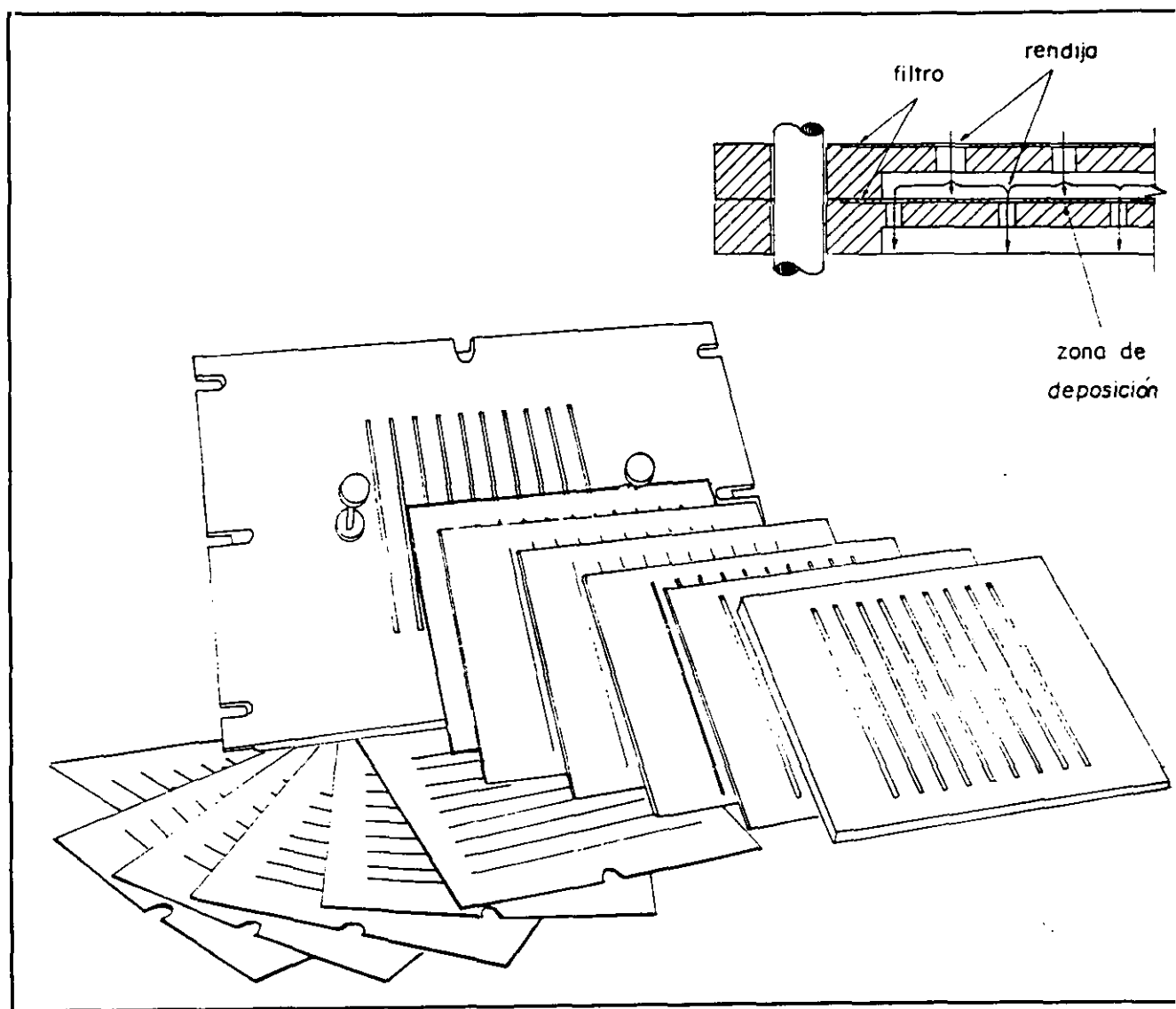


Figura 9.- Impactador en cascada Sierra Andersen, modelo 236 (20 CFM).

El aire a muestrear es aspirado a través de las rendijas de las etapas y filtros. Las partículas mayores que el primer punto de corte, esto es mayor que 10.2 micras, chocan en el primer filtro colector, pasando la corriente de aire a la segunda etapa.

En esta segunda etapa, el aire filtrado sufre una aceleración al pasar por la abertura más estrecha de la segunda etapa y chocan en el segundo filtro las partículas mayores y así sucesivamente hasta atravesar todas las etapas. La distancia entre las rendijas del filtro es igual para cada etapa.

El equipo seleccionado para su utilización en la aplicación práctica de nuestro trabajo tiene siete etapas que distribuyen las partículas de la siguiente forma:

- 1ª Etapa: Partículas comprendidas entre 10.5 micras y 10.2 micras
- 2ª Etapa: Partículas comprendidas entre 10.2 micras y 4.2 micras
- 3ª Etapa: Partículas comprendidas entre 4.2 micras y 2.1 micras
- 4ª Etapa: Partículas comprendidas entre 2.1 micras y 1.35 micras
- 5ª Etapa: Partículas comprendidas entre 1.35 micras y 0.69 micras
- 6ª Etapa: Partículas comprendidas entre 0.69 micras y 0.39 micras
- 7ª Menores que 0.39 micras.

En la última etapa o "back-up" se depositan las partículas inferiores a 0.39 micras. Este filtro final tiene las mismas dimensiones y características de los anteriores muestreadores, mientras que los filtros previos ranurados tienen dimensiones más reducidas (14 x 14 cm). Existen en el mercado muestreadores comerciales que combinan los tres tipos de equipos descritos.

Si se sustituye en un equipo de alto volumen convencional el cabezal por otro P.M-10 tendríamos el equipo B.

Si se introduce en el interior del cabezal P.M-10 un sistema de impactación, tendríamos el muestreador C.

Esta posibilidad de combinación presenta la ventaja de poseer una completa distribución de partículas pero tiene un coste analítico elevado por supeditar a la realización de siete análisis cada muestreo efectuado.

En nuestro trabajo se ha muestreado no obstante con un equipo de alto volumen como el que acabamos de describir con el fin de establecer la relación de los contaminantes con el tamaño de la partícula y también con un equipo del tipo A para el estudio de la composición orgánica del aerosol.

Dentro del método de captación por filtración considerado como el óptimo para el análisis de contaminantes en el aerosol es fundamental realizar un estudio pormenorizado del uso de medios filtrantes para la captación de partículas en el campo de la contaminación atmosférica.

2.1.5.2. Sistemas de captación de compuestos orgánicos en fase de vapor

Los compuestos orgánicos que están presentes en el aerosol atmosférico tienen un amplio rango de pesos moleculares y consecuentemente de presiones de vapor. Es necesario por tanto a la hora de marcar una estrategia de muestreo tener un buen conocimiento de la distribución de estos compuestos entre la fase gaseosa y la particulada (123)(124)(125)(126)(127).

Es sabido que dentro de los compuestos orgánicos los hidrocarburos en general: alifáticos, aromáticos, policíclicos y poliheterocíclicos y en particular los de bajo peso molecular como los poliaromáticos de tres a cinco anillos, como por ejemplo del antraceno al benzo(a)pireno no son suficientemente recogidos sobre los filtros por su capacidad de estar distribuidos entre ambas fases (128)(129)(130).

Durante el muestreo se pueden producir fenómenos tanto de evaporación como de sublimación. Este fenómeno de pérdida de componentes es conocido como "blow-off" y es especialmente crítico para compuestos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

La distribución de los compuestos orgánicos entre la fase adsorbida y la que permanece en fase de vapor es función de una serie de factores físicos y químicos entre los que se pueden citar:

1. La presión de vapor a temperatura ambiente
2. El área de la superficie que forman las partículas susceptibles de producir adsorción.
3. La afinidad de los compuestos por la matriz orgánica de las partículas.
4. El estado del compuesto en la emisión (vapor, adsorbido en la superficie de las partículas o contenido en las mismas).
5. La reactividad de los compuestos.

Se han estudiado modelos de predicción para estimar que porcentaje de un determinado compuesto se encuentra distribuido entre la fase de vapor y la particulada.

El modelo de Junge utilizado por Doskey (131), responde a la expresión:

$$\Phi = \frac{c\theta}{c\theta + p_0}$$

en la que:

Φ = es la fracción de concentración adsorbida de la concentración total en el aire.

c = es una constante que depende del peso molecular y del calor de condensación. (Su valor está estimado en 0.13 para un amplio rango de compuestos orgánicos).

p_o = es la presión de vapor de saturación en milímetros de mercurio del compuesto.

θ = es el área de la superficie cubierta por partículas por unidad de volumen de aire expresada en cm^2/cm^3 (oscila entre 1×10^{-6} en atmósferas rurales y 1×10^{-7} para atmósferas limpias).

Este modelo es útil para estimar tendencias de distribución, sin tener en cuenta fenómenos de absorción que también pueden tener lugar.

De acuerdo con estas consideraciones y a fin de conseguir un muestreo eficaz, se han desarrollado sistemas de captación de los compuestos en fase de vapor complementarios de los anteriormente estudiados para la materia particulada para obtener así una captación totalizada de los mismos.

Aunque los primeros intentos al respecto estuvieron basados en la impregnación de filtros (128), todos los sistemas actualmente en desarrollo están enfocados hacia la adsorción sobre una amplia gama de adsorbentes. Este fenómeno como tal estará regido según la Ley de Languemuir, por la concentración de componentes y la temperatura, parámetros a tener en cuenta entre las variables que rigen los sistemas de captación para una utilización adecuada.

En la tabla 13 se detallan los adsorbentes de uso más generalizado que se han empleado en sistemas filtrantes de bajo, medio y alto volumen similares a los de la materia particulada.

ADSORBENTE	COMPOSICION QUIMICA	TRATAMIENTO DE PURIFICACION	RANGOS DE FLUJO	COMPUESTOS CAPTADOS
AMBERLITAS XAD-2, XAD-4	Polímero de estireno y vinilbenceno (20-50 mesh)	Soxhlet 24h H ₂ O/CH ₃ OH/CH ₂ Cl ₂	Mediano Bajo	PCB's PAH's < 4 anillos Alcanos < C ₂₀
TENAX GC	Polímero de óxido 2-6- difenil-fenileno 60 -80 mesh	Soxhlet 24h n-pentano	Bajo	Hidrocarburos C ₂ a C ₁₀
PUF (Espuma de poliuretano)	Espuma de poliuretano Densidad: 0.022 g/cm ³	Soxhlet 24h Acetona/metanol/ CH ₂ Cl ₂	Amplio	PAH's < 4anillos Alcanos < C ₂₀
FLORISIL	Silicato magnésico	Soxhlet 24h Acetona/metanol/ CH ₂ Cl ₂	Bajos	Pesticidas PCB's TCDD's
CARBON ACTIVO	Carbón	Purificación difícil Desorción térmica	Bajos	Hidrocarburos Pm bajo

Tabla 13.- Adsorbentes de uso mas generalizado para sistemas filtrantes de bajo, medio y alto volumen.

La captación de partículas combinada con la utilización de un adsorbente como el tenax obliga a trabajar con flujos bajos (equipos de medio o bajo volumen) (132)(133). Cautreels (91) empleando tenax y un equipo de alto volumen y haciendo un by-pass de tal manera que se estableciera una relación de 16:1 entre el volumen muestreado y el que ha pasado por el tenax, obtiene relaciones entre la concentración de $\{PAH's\}_{particulas} / \{PAH's\}_{vapor}$ que oscila entre 0.027 para compuestos con tres anillos; 0.26 para 4 y 3.15 - 11.5 para cinco anillos y condensaciones superiores. Para hidrocarburos alifáticos el rango oscila entre 0.053 para compuestos < C₁₈ y 2.81 para > C₂₃.

Thrane (125) encuentra relaciones similares combinando filtros de fibra de vidrio y espumas de poliuretano (PUF). Este tipo de adsorbentes se emplea para

la captación de un amplio espectro de compuestos como hidrocarburos clorados (plaguicidas, PCB'S, TCDD, etc) (134) en aire, así como hidrocarburos tanto alifáticos como aromáticos. Caudales superiores a 25 m³ / hora son suficientes para detectar PAH's en atmósferas rurales y urbanas.

Yamasaki (135) encuentra empleando entre 45 - 48 m³ de caudal y espuma de poliuretano como adsorbente, que la distribución de PAH's entre el filtro y el PUF es función de la temperatura, de la adsorción y de los calores de sublimación. A temperaturas entre 5° - 30° C compuestos con tres anillos se encuentran fundamentalmente retenidos en la espuma, pero a temperaturas altas aun fueron encontrados compuestos de cinco anillos en dicha espuma.

Los adsorbentes de poliuretano se cortan en forma de cilindros de diferentes dimensiones que se alojan en cartuchos de material inerte y se sitúan inmediatamente después del filtro de partículas, colocando uno o más cilindros para captaciones cuantitativas (136)(137)(138)(139).

Se han realizado numerosos estudios en atmósferas rurales, urbanas y pruebas de laboratorio (112)(140)(141)(142). En todos los casos se ha utilizado una espuma de poliuretano de densidad aproximada 0.022 g.cm⁻³.

También se han empleado otros adsorbentes para la captación de productos volátiles y semivolátiles, como la resina XAD-2. Esta resina posee una macrorretícula que admite una elevada capacidad de adsorción (143)(144) y al igual que el tenax no admiten grandes caudales de flujo. En la bibliografía aparecen otros adsorbentes como Porapak Q y S, Chromosorb 102 y carbón de diferentes capacidades de adsorción.

De todos los adsorbentes seleccionados las resinas XAD-2, el tenax y la espuma de poliuretano son los más utilizados en la actualidad, aunque la espuma de poliuretano (PUF) presenta las mejores características y rangos de flujo. Su manejo es sencillo y en cuanto a costes representa el más bajo de todos los

adsorbentes estudiados.

Todos los adsorbentes necesitan previamente a su empleo tratamientos fuertes de limpieza con varios tipos de disolventes mediante la técnica de soxhlet y períodos de tiempo superiores a 24 horas (145).

Un esquema del cabezal de captación simultánea de partículas y de fracción volátil se representa en la figura 10. Este cabezal se monta en un equipo similar al de la figura 6.

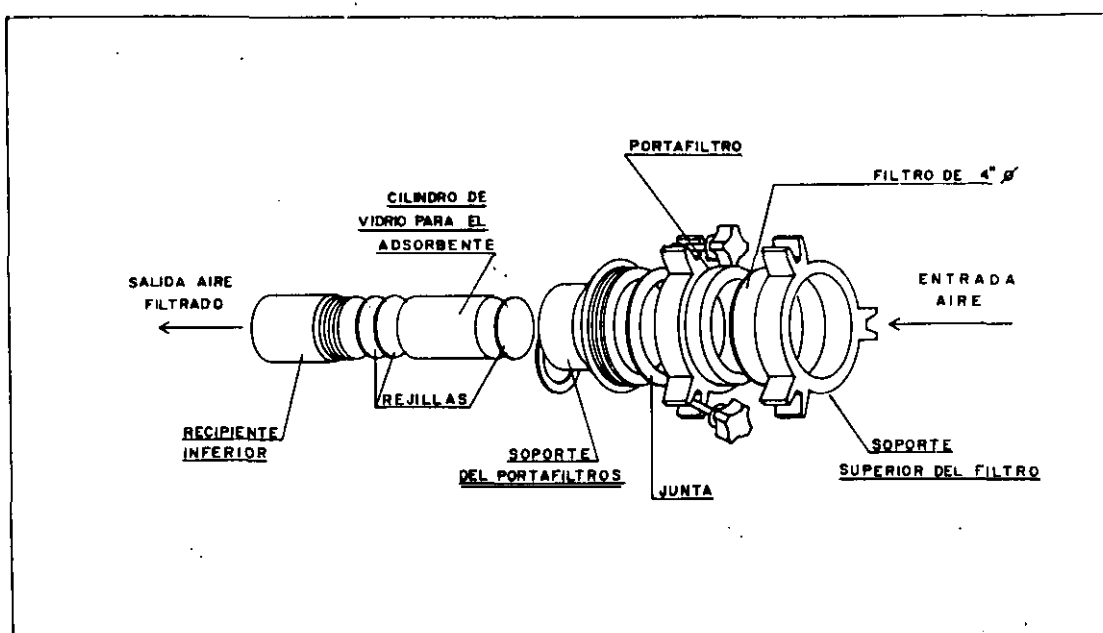


Figura 10.- Cabezal para la captación de la fracción volátil.

Dentro del muestreo de la fracción volátil ofrece especial interés el cromatográfico. En este tipo de muestreo se utilizan generalmente columnas cromatográficas de dimensiones reducidas. Corrientemente se emplean como métodos de concentración y suelen efectuarse bien sea por colección total o por concentración por equilibrio.

En el primero, los componentes de la muestra forman una banda frontal cromatográfica en la columna de muestreo rellena con un adsorbente (carbón activo, tamices moleculares, polímeros porosos, etc) reteniéndose la totalidad de la muestra.

En el de equilibrio, en la columna cromatográfica rellena de fase estacionaria líquida sobre soporte inerte, se recoge solamente la cantidad de contaminantes necesaria para alcanzar el equilibrio de distribución entre la fase gaseosa y la fase líquida (146).

2.1.6. Sistemas filtrantes

Los filtros representan el medio primordial de caracterizar la materia particulada en el aire, presentan en general una serie de ventajas respecto a otros métodos de captación como es su facilidad de manejo, el poder admitir grandes volúmenes de aire, existir una gran variedad de tipos y tamaños e incluso pueden mantener el flujo lineal con sólo cambiar el filtro variando así el volumen de aire muestreado (147).

Pueden operar en diferentes condiciones de temperatura, humedad y cantidad de materia a filtrar simplemente eligiendo el tipo de filtro más apropiado.

No obstante, presentan la necesidad de ser sustituidos de un muestreo a otro y hemos de tener en cuenta también que existe la posibilidad de que se produzcan alteraciones físico-químicas de los contaminantes en la superficie del mismo.

Los mecanismos mediante los cuales las partículas quedan atrapadas en estos medios filtrantes se basan fundamentalmente en fenómenos tales como: impactación, intercepción directa, difusión o en fuerzas tanto electrostáticas como gravitacionales (148).

La impactación será tanto más eficaz cuanto mayor sea el diámetro de la partícula que atraviesa el filtro y cuanto mayor sea el flujo, mientras que para el proceso de difusión el fenómeno es inverso.

Las partículas menores de 0.4 micras poseen movimiento browniano y se difunden desde la corriente del aire a la superficie del filtro adheriéndose a ella por fuerzas de atracción. Si el filtro y las partículas adquieren cargas eléctricas, éstas fuerzas pueden contribuir a una mayor eficacia de captación.

En la figura 11, se representan los diferentes mecanismos de la filtración (148).

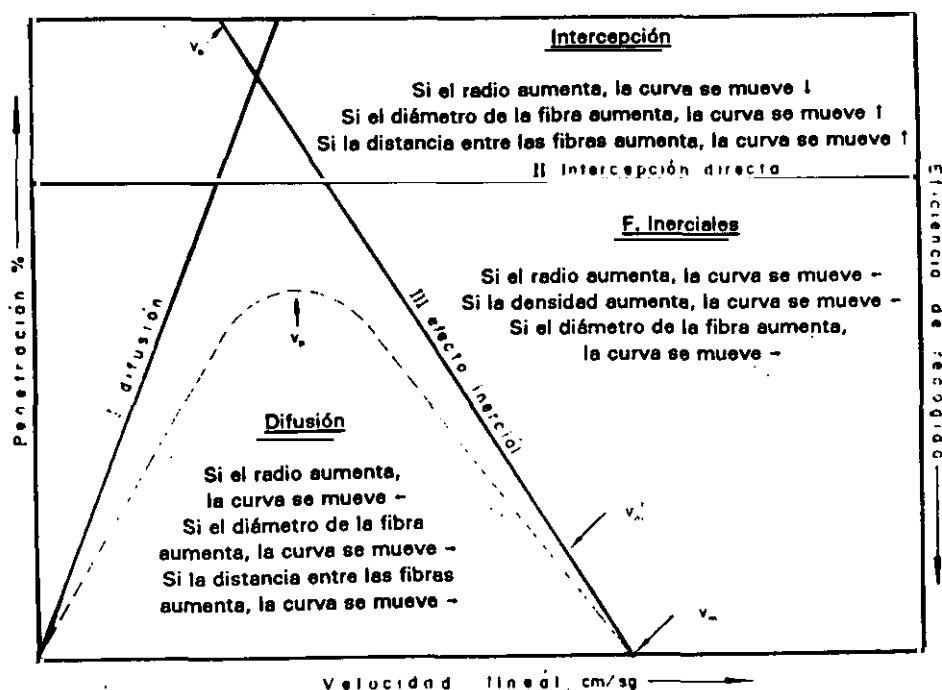


Figura 11.- Mecanismos de filtración.

La línea I representa el efecto de la captación por difusión y la variación en función del radio de la partícula, del diámetro de las fibras del filtro y la distancia que existe entre las mismas. A medida que aumenta la velocidad lineal disminuye el efecto de difusión.

La línea II representa la captación por intercepción directa. Como puede apreciarse, es independiente de la velocidad lineal. La penetración disminuye a medida que aumenta el radio de la partícula, y aumenta cuando se incrementa la distancia entre las fibras del filtro.

La línea III representa la eficacia de captación por efecto inercial. Un aumento de tamaño de la partícula mejora este efecto.

V_m representa la velocidad lineal máxima donde es máxima también la eficacia de captación con una menor penetración.

V_p indica el valor de la velocidad para la cual es máxima la penetración en la curva que representa la eficacia.

RANGOS	CELULOSA	FIBRA DE VIDRIO	FIBRA DE CUARZO	MEMBRANAS
Espesor μ	100-1000	125-890	450	100-200
Peso/superficie (mg/cm ²)	8-32	5.4-15.0	8.5	3.6-6
Cenizas (%)	0.008-1.3	99-100	99-100	0.0001-0.01
T° máx.uso (°C)	80-150	400-550	500	125-200
Tamaño de poro (μ)	Variable	Variable	Variable	8-0.05
Compatibilidad con reactivos orgánicos	Inerte	Inerte	Inerte	Variable
Eficacia	Poco eficaces	100% partículas > 0.32 μ	100% partículas > 0.32 μ	100% partículas > 0.32 μ

Tabla 14.- Características generales de los filtros para la captación de partículas. (148).

Se encuentran en la bibliografía numerosos estudios experimentales realizados

con gran variedad de tipos de filtros aunque centrándose fundamentalmente en los tipos siguientes: a) filtros de fibra de celulosa, b) filtros de fibra de vidrio, c) filtros de fibras de cuarzo, d) fibras mezcladas y e) filtros de membrana.

Las características de cada uno de estos tipos de filtros vienen reflejadas en el tabla 14.

2.1.6.1. Criterios de selección

Al igual que se hizo con los sistemas de captación haremos el estudio crítico de los citados medios filtrantes para seleccionar el más conveniente.

Los filtros de fibra de celulosa constituidos por pulpa de celulosa purificada, han sido los pioneros en los procesos de filtración, denominándose filtros químicos por ser utilizados por vía húmeda. Estos filtros presentan una gran penetración de partículas, lo que implica cierta resistencia al paso del aire.

Contienen una cantidad importante de impurezas que son difíciles de eliminar mediante extracción con disolventes orgánicos. Tampoco se les puede someter a calcinación a temperaturas elevadas. Recientes estudios demuestran que los filtros de celulosa absorben humedad de forma irreversible necesitando un control exhaustivo de blancos.

Los filtros de fibra de vidrio están constituidos únicamente por vidrio borosilicatado resistente al ataque químico, de ahí su gran utilidad en el análisis de contaminantes inorgánicos. Son además inalterables a los disolventes orgánicos lo que permite utilizarlos para la caracterización orgánica del aerosol.

La fibra de vidrio presenta menor penetración de las partículas que la fibra de celulosa y por tanto menor resistencia al paso del aire y mayor capacidad de

recolección. La concentración en la superficie del filtro es del orden de 2.5 veces superior que en la fibra de celulosa.

La fibra de vidrio es en cambio frágil y quebradiza pudiendo presentar posibles fisuras en su estructura que podrían originar pérdida de partículas, exigiendo por tanto comprobación previa a su utilización. Presentan igualmente contaminación de fondo, en especial compuestos orgánicos, pero se puede eliminar por calcinación a temperaturas incluso superiores a 500°C. Las características higrométricas son tales que hacen que sean bastante estables en relación a los cambios de humedad.

Algunos investigadores han comprobado la formación de "artefactos" en la superficie de los filtros por reacción con otros contaminantes como el NO₂, originando nitrocompuestos o compuestos de degradación de PAH's en la superficie, por ambos motivos se ha sustituido la fibra de vidrio por fibra de cuarzo cuyo único inconveniente es el alto coste para el caso de pretender utilizarlos para trabajos de rutina.

Los filtros de fibra de vidrio con teflón presentan mayores índices de recuperación de contaminantes que los de fibra de vidrio debido principalmente a la naturaleza inerte del teflón.

Otro grupo importante es el constituido por los filtros de membrana cuya estructura corresponde a una malla de tipo polimérica rígida uniforme y continua. Debido a esta estructura las partículas son retenidas en la superficie, por tener el diámetro de poro controlado en el proceso de fabricación de los mismos, la retención es cuantitativa para partículas de tamaño superior al tamaño de poro establecido, siendo eficaces para partículas de diámetro superior a una micra.

Presentan gran facilidad para colmatarse con la consecuente disminución rápida del flujo y el consiguiente perjuicio en el sistema de aspiración, no siendo aptos por tanto para captación de altas concentraciones de partículas.

Además, algunos tipos de membranas son solubles en disolventes orgánicos, lo que obliga a seleccionar aquellos que no produzcan interferencias a lo largo del proceso analítico. De entre todos los tipos de membranas disponibles las más utilizadas son las de ésteres de celulosa, cloruro y fluoruro de polivinilo y de teflón.

Es necesario seleccionar los disolventes más adecuados para evitar la solubilización de ciertos filtros de membrana.

De las consideraciones anteriormente expuestas derivadas de un exhaustivo estudio bibliográfico (130)(149)(150)(151)(152) se han adoptado para la realización de este trabajo los filtros de fibra de vidrio cuyas peculiaridades más significativas resaltamos a continuación:

1. Admiten altas velocidades de flujo en el rango comprendido entre 20-100 m³ / h.
2. Presentan gran capacidad de carga.
3. Poseen gran eficacia de captación siendo superior al 99% para partículas > 0.3 micras.
4. Su precio es relativamente asequible.

2.1.7. Estudio experimental de la eficacia de captación en filtros de fibra de vidrio realizada con un equipo de alto volumen

Teniendo en cuenta la existencia en el mercado de una gran variedad de filtros de fibra de vidrio cuyas características físicas están dentro de las exigencias requeridas para el muestreo de aerosoles, se ha realizado un estudio experimental sobre la eficacia de captación con aquéllos que hemos considerado más afines al tipo de captador de alto volumen seleccionado.

Dado que los filtros de vidrio Whatman son según la bibliografía los más ampliamente utilizados, hacemos a continuación en la Tabla 15 la intercomparación

de propiedades de sus diversos tipos.

Tanto el tipo GF/B como el GF/F tienen gran espesor y poca penetración, lo que implica mayor colmatación y una velocidad de filtración lenta; por esta razón, el estudio experimental se ha centrado en los tipos restantes (FG/A, GF/C, GF/D).

Para este trabajo experimental se utilizaron tres captadores de alto volumen de idénticas características situados a una distancia prudencial para no producir interferencias entre ellos y trabajando simultáneamente durante 22 horas cada día a lo largo del período enero-octubre de 1988 (153).

TIPO	GF/A	GF/B	GF/C	GF/D	GF/F
Peso (g/m ²)	53	143	53	120	75
Espesor (mm)	0.26	0.68	0.26	0.68	0.42
Penetración (μ)	1.6	1.0	1.2	2.7	0.7
Velocidad filtración (secs/100mL.ASTM)	13.0	5.5	10.5	16.5	6.0
Resistencia en estado húmedo	kPa 2.0	3.2	2.0	3.2	2.3
	psi 0.29	0.47	0.29	0.47	0.33
Tracción secos	430	830	430	500	800
Capacidad de carga	Alta	Muy alta	Alta	Muy alta	Alta

Tabla 15.- Características de los filtros de fibra de vidrio Whatman.

Los filtros se estabilizaron previamente durante un tiempo mínimo de 24 horas.

Una vez pesados se colocaron en el portafiltros del aparato de alto volumen. Tras ser retirados del portafiltros y pasadas 24 horas de estabilización, se procedió nuevamente a la pesada. El resultado se expresa en microgramos por metro cúbico de aire muestreado. Los resultados obtenidos vienen indicados en la tabla 16.

Como puede apreciarse en ella, el muestreo se realizó durante 132 días para el equipo con filtros GF/A, 107 días para los GF/C y 90 días para los GF/D. Las diferencias existentes en cuanto a los valores máximos y mínimos de captación, pueden ser atribuidas fundamentalmente a que el estudio está realizado a lo largo de un año con períodos de contaminación diferente.

FILTRO	Nºmuestras 1988	V.máx $\mu\text{g}/\text{m}^3$	V.mín $\mu\text{g}/\text{m}^3$	V.medio $\mu\text{g}/\text{m}^3$	SD	RSD
GF/A	132	196	26	62	34	54
GF/C	107	101	17	53	20	37
GF/D	90	229	15	70	35	50

Tabla 16.- Concentración de partículas en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ correspondientes a los filtros estudiados en captador de alto volumen (153).

Esta disparidad de valores se refleja en la desviación estandar. Puede apreciarse, no obstante, que no existen diferencias significativas entre los distintos tipos de filtros de fibra de vidrio estudiados ya que la concentración másica media es similar en los tres casos.

Según estas deducciones se ha adoptado para nuestras experiencias el filtro de fibra de vidrio de tipo GF/A por ser el que dentro de los tres tipos que guardan las exigencias requeridas son de menor coste.

2.2. METODOS DE EXTRACCION DE LOS COMPUESTOS ORGANICOS

2.2.1. Estudio bibliográfico.

REVISION BIBLIOGRAFICA			
METODO	FUNDAMENTO	APLICACION	BIBLIOGRAFIA
SUBLIMACION A VACIO	Extracción de compuestos capaces de sublimarse en determinadas condiciones de presión y temperatura	Sustancias sublimables	Stenberg U.R.1981 (170)
SOXHLET	Percolación repetida de un disolvente sobre una matriz.	Extracción de compuestos orgánicos en diferentes sustratos	Brodding G.1977 (120) Cautreels W.1977 (168) Lyall R.J.1988 (113) Greenberg A.1989 (173)
ULTRASONIDO	Extracción mediante ondas de alta frecuencia	Extracción de compuestos orgánicos en diferentes sustratos	Normas ASTM. (185) Griest W.H.1980 (175) Griest W.H.1988 (178) Nielsen T.1988 (177)
FLUIDOS SUPERCRITICOS	Extracción mediante la acción de fluidos supercríticos (CO ₂ , MeOH, etc)	Extracción de compuestos orgánicos en diferentes sustratos	Campbell R.M.1986 (182) Wright B.W.1987 (181) Hawthorne S.B.1987 (183) Ndiomu P.D.1989 (184) Khorassani M.A.1990(180)

Tabla 17.- Extracción. Resumen bibliográfico

2.2.2. Introducción

Todo proceso de muestreo o concentración requiere posteriormente, como paso obligado la recuperación de las sustancias muestreadas y la eliminación por tanto de aquellas otras que interfieren o simplemente no son necesarias por ser de naturaleza distinta a las que nos ocupan, como pueden ser compuestos inorgánicos o sustancias carbonosas.

La elección del proceso de extracción depende en gran parte del tipo de muestra a analizar. Es sabido que cuando la matriz de la muestra es soluble en el disolvente utilizado no se presentan problemas importantes, pero cuando no ocurre así, puede suceder que la separación no sea completa. Por ejemplo, los PAH's pueden quedar alojados en el hollín sin ser extraídos totalmente. La extracción de este tipo de contaminantes va a depender del equilibrio de adsorción-desorción que se establezca entre la matriz o residuo insoluble y el disolvente.

Ya en los primeros estudios de caracterización orgánica del aerosol se vio que la fracción orgánica representa un amplio conjunto de muy distintas clases químicas correspondientes a funciones ácidas, básicas y neutras, y en el que la fracción neutra según Wynder (154) representa aproximadamente el 73 %, o el 60 % según Cautreels (155).

Dentro de esta fracción neutra se encuentran sustancias diversas, no existiendo por tanto un disolvente único capaz de extraerlas todas.

2.2.3. Agentes extractantes

Se ha estudiado a lo largo de estos últimos quince años un gran número de disolventes que pueden ser utilizados para el correcto aislamiento de los

compuestos orgánicos del aerosol atmosférico. Si, no para cada una de las sustancias químicas presentes, si, al menos para aquellas que por sus características químicas afines, puedan ser extraídas conjuntamente.

En la tabla 18, se representan los compuestos químicos extractantes más utilizados, así como sus características físico-químicas más importantes en relación con el tema que nos ocupa.

DISOLVENTES	CTE. DIELECTRICA	$E^0(Al_2O_3)$ (1)	POLARIDAD d (2)	INFLAMABILIDAD	PEL (3)	P.E. °C
n-Pentano	1.84	0.00	7.1	+	10 ³ ppm	36
n-Hexano	1.88	0.01	7.3	+	500ppm	68.9
Ciclohexano	2.02	0.04	8.2	+	300ppm	80.7
Tolueno	2.4	0.29	8.9	+	200ppm	110
Benceno	2.3	0.32	9.2	+	1ppm	80.1
Acetona	20.7	0.56	9.4	++	10 ³ ppm	56.5
Diclorometano	8.9	0.42	9.6	-	500ppm	39.7
Piridina	12.3	0.71	10.4	++	5ppm	115.5
Nitrometano	-	0.64	11.0	-	100ppm	101
DiM.formamida	36.7	-	11.5	-	10ppm	153
DMSO	4.7	0.60	12.8	-	-	189
Metanol	32.7	0.95	12.9	+++	200ppm	64.7
(1) Fuerza del disolvente según Snyder (156)						
(2) Polaridad d, según Hildebrand						
(3) Límites de exposición permitidos (157)						

Tabla 18.- Propiedades físicas de los disolventes más empleados como agentes extractantes.

2.2.4. Características de los disolventes

A fin de conseguir una extracción eficaz de los componentes que constituyen el aerosol se ha realizado un estudio de los disolventes empleados en este campo tratando de utilizar aquellos que reúnan unas características tales que puedan ser capaces de extraer cuantitativamente los compuestos orgánicos que nos interesan.

En la tabla antes mencionada se ha considerado en primer lugar el *hexano* como agente extractante de naturaleza apolar, pero también la bibliografía considera el éter de petróleo, el pentano y el isooctano como disolventes de similares características. Su capacidad de extracción está prácticamente limitada a compuestos de naturaleza afín como pueden ser las series homólogas de parafinas y cicloparafinas, etc. La extracción por otro lado no llega a ser cuantitativa para otros componentes como hidrocarburos aromáticos policíclicos, aromáticos poliheterocíclicos y demás compuestos de diferente polaridad.

El isooctano, de similares características al resto de los alcanos mencionados presenta la ventaja de que al poseer un punto de ebullición elevado se considera muy útil para disolver extractos y posterior introducción en un cromatógrafo de gases para su análisis.

En orden de aplicación, quizá sea el *benceno* el agente extractante más utilizado en el estudio de partículas atmosféricas, partículas procedentes de motores diesel, cenizas tanto volantes (fly-ash) como procedentes de chimeneas (stack-ash), para solubilizar los compuestos poliaromáticos que contienen. Su utilización se ha reflejado en la bibliografía en numerosas publicaciones durante un amplio período de tiempo.

En los estudios de eficacia de extracción con este disolvente para el caso de los PAHs, se han obtenido resultados superiores al 95 % (158)(159).

Debido a su gran toxicidad y siendo por lo tanto su dosis letal cincuenta LD₅₀ tan baja, y habiéndose además demostrado que los vapores por inhalación pueden inducir a la leucemia (160), su empleo ha disminuido considerablemente.

Algunos hidrocarburos aromáticos del tipo *tolueno* y *xileno* han sido también utilizados como agentes extractantes, por considerarlos menos tóxicos que el benceno.

Grimmer estudió la extracción con tolueno y xileno de diferentes PAH's en una muestra de partículas de hollín procedentes de motores de combustión diesel, obteniendo recuperaciones entre 88 - 93 %. El tolueno está considerado como un buen agente extractante en la recuperación de compuestos orgánicos policíclicos.

Tanto el tolueno como el benceno han sido desplazados por otros disolventes como el ciclohexano (161)(162)(163) por ser menos tóxico que éstos y porque además, al no presentar absorción en la región del ultravioleta, permite el uso de métodos de detección espectroscópicos.

El ciclohexano se ha empleado extensamente en la extracción de parafinas, PAH's y otros compuestos aromáticos de naturaleza neutra con similares recuperaciones que las proporcionadas por el benceno, aunque de menor eficacia cuando se utiliza con matrices complejas en las que los compuestos aromáticos se encuentran fuertemente adsorbidos.

El empleo del *diclorometano* se ha impuesto sobre otros disolventes debido a su bajo punto de ebullición que facilita el empleo del soxhlet durante largos períodos de extracción, sin necesidad de someter la muestra a temperaturas elevadas que podrían conducir a pérdidas por evaporación considerables. Es un disolvente capaz de extraer también compuestos semipolares y no polares sustituyendo por lo tanto eficazmente al benceno (164). El diclorometano puede extraer también ácidos orgánicos libres de elevado peso molecular aunque es necesario un posterior tratamiento de metilación (27)(42).

El metanol es un disolvente de gran poder de extracción y puede emplearse sólo o mezclado con otros disolventes menos polares. Su eficacia de extracción es del orden de 1.35 veces mayor que la del benceno (165) y de 1.61 - 1.69 más que la del ciclohexano para compuestos presentes en el aerosol atmosférico (165)(166). Puede extraer compuestos tales como sales y ésteres (167) e incluso sales inorgánicas. No obstante, el empleo del metanol lleva asociados complicados procesos de purificación posteriores.

La piridina proporciona también buenas recuperaciones de PAH's (168) en materia particulada, siendo superiores los resultados comparados con el benceno (169).

Se han ensayado también disolventes de carácter más polar y peso molecular superior como la ***dimetilformamida (DMF)*** y el ***dimetilsulfóxido (DMSO)***, haciendo un reparto con benceno y forzando la partición por adición de agua (169)(170).

Otros sistemas ensayados consisten en extraer una misma muestra con diferentes disolventes variando su polaridad. Un ejemplo de este tipo de sistemas consiste en la extracción con ciclohexano, a continuación se somete la muestra a la acción del diclorometano y una posterior extracción con acetona. La aplicación de estos procedimientos requiere un incremento en el tiempo de extracción, un mayor gasto de disolventes y por consiguiente un incremento en el costo por análisis.

Algunos autores han ensayado mezclas binarias con disolventes tales como: benceno-metanol (169), diclorometano-metanol (57) o ciclohexano-diclorometano (141) en un solo proceso con el fin de extraer la mayor parte de los componentes presentes en el aerosol.

Gordon (169), tras numerosos análisis realizados con diferentes agentes extractantes, opina que un valor de la fuerza del disolvente E^0 del orden de 0.3 (Tabla 18), o superior, es adecuado para extraer PAH's e hidrocarburos alifáticos de una muestra de materia particulada.

2.2.5. Disolventes seleccionados

Según el estudio realizado sobre las características peculiares de los extractantes en uso, hemos considerado como los más idóneos para su empleo en nuestro trabajo sobre los compuestos orgánicos presentes en la materia particulada los disolventes siguientes: *ciclohexano* y *diclorometano*. Esta elección se basa fundamentalmente en los siguientes puntos:

1. Poseen un poder de extracción adecuado para los hidrocarburos alifáticos y aromáticos.
2. Ambos disolventes presentan, frente a otros, menor riesgo para la salud
3. Son compatibles con los métodos cromatográficos empleados.

2.2.6. Metodologías de extracción.

Existen varias técnicas de extracción de compuestos orgánicos ambientales en la materia particulada entre las que hemos de destacar:

- a) Sublimación a vacío
- b) Extracción mediante dispositivo soxhlet
- c) Extracción mediante baño ultrasónico
- d) Extracción mediante fluidos supercríticos.

a) *Sublimación a vacío*

El equipo para desarrollar la técnica de sublimación a vacío consiste en un dispositivo de vidrio de forma esférica por el que circula agua a una temperatura de cinco a diez grados Celsius y que posee una superficie de contacto de alrededor de 1600 mm². Este dispositivo se introduce en un tubo de vidrio en el que es

posible realizar vacío, y en cuyo fondo se deposita la muestra.

El conjunto se introduce en un horno a 300° C, reduciéndose simultáneamente la presión a 0.1 torr durante un tiempo variable (de 15 minutos hasta 96 horas), lo que provoca la sublimación de la muestra que se deposita sobre la superficie esférica fría (171).

El procedimiento de la sublimación a vacío presenta la ventaja de no contaminar la muestra con la presencia de disolventes como agentes externos a ella. Necesita no obstante instrumentación de precisión y proporciona recuperaciones pobres para compuestos aromáticos semipesados. Es un procedimiento no obstante útil para la extracción de un determinado tipo de PAH's.

Los procedimientos de extracción por antonomasia según datos bibliográficos son los que se realizan mediante soxhlet y por baño ultrasónico.

b) Extracción en Soxhlet

La técnica de extracción en soxhlet se basa en la solubilización de compuestos que se encuentran en una determinada matriz. Esta matriz se coloca en el interior de un extractor (percolador de vidrio) de funcionamiento continuo. El recipiente de vidrio que contiene la muestra está intercalado entre un matraz de destilación y un refrigerante de reflujo conectado al matraz a través de un sifón. El matraz contiene el disolvente que se evapora y pasa a través del sifón hasta el refrigerante de reflujo, donde se condensa y gotea sobre la muestra disolviendo las sustancias de la matriz. Esta solución se va acumulando en el recipiente de vidrio que contiene la muestra y tras haber alcanzado un determinado nivel se descarga automáticamente en el matraz inferior en el que por la constante evaporación de disolvente puro se van acumulando y concentrando las sustancias extraídas. Esta técnica ha tenido siempre una gran aceptación (113)(120)(168)(172)(173). Produce buenas recuperaciones en diferentes matrices ambientales, empleando distintos disolventes como ya se ha comentado en el apartado anterior de estudio de los mismos.

Hay que tener en cuenta que este procedimiento requiere al menos seis horas para que la extracción sea cuantitativa y que durante este tiempo los componentes a extraer están sometidos a temperaturas elevadas, siendo tanto mayores cuanto mayor sea el punto de ebullición del disolvente empleado.

c) Técnica de extracción mediante ultrasonido .

Esta técnica consiste en la aplicación de ondas de alta frecuencia, producidas por un generador y propagadas mecánicamente por un transductor al interior de un baño de agua en donde se encuentra introducida la muestra en un disolvente adecuado, dando lugar a un efecto de cavitación o formación de burbujas. Como consecuencia de este fenómeno se logra una solubilización de los compuestos de la matriz orgánica en el disolvente. El procedimiento (174)(175)(176)(177)(178) presenta la ventaja de necesitar períodos de extracción relativamente cortos para proporcionar recuperaciones superiores al soxhlet cuando se trata de compuestos de bajo peso molecular.

Para compuestos de alto peso molecular y matrices en las que los compuestos se encuentren fuertemente retenidos (cenizas, carbón, etc) es más aconsejable el procedimiento de soxhlet.

d) Extracción mediante fluidos supercríticos.

Actualmente los fluidos supercríticos se emplean de manera análoga a los eluyentes en la Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC) o a los gases portadores en Cromatografía de Gases (GC). Su aplicación en métodos de extracción (179)(180)(181) y de manera especial en el caso de partículas y compuestos orgánicos derivados del petróleo y del carbón, está teniendo un notable interés (182)(183)(184).

Las principales ventajas de su aplicación están basadas en las propiedades que presentan los fluidos supercríticos, que en función de su presión, temperatura y

composición resultan ser intermedias entre las características de los gases y los líquidos. Una propiedad importante de estos fluidos supercríticos es que por encima de la temperatura crítica, la compresibilidad del fluido es grande y con pequeñas variaciones de presión pueden originarse cambios importantes en la densidad del fluido pudiendo ser de órdenes de 100 - 1000 veces mayores que en un gas, y las características de solvatación son semejantes a las de un líquido, en cambio, los coeficientes de difusión y la viscosidad se mantiene como las de un gas, de ahí su gran aplicación.

Aunque las propiedades extractivas de un fluido supercrítico cuando se emplea como agente extractante van a ser similares a las de los disolventes líquidos convencionales, se produce una mejora en las propiedades de transferencia de masa lo cual implica una mayor capacidad de extracción y mayor eficiencia al ser más fácil la penetración en la matriz de la muestra (179).

El anhídrido carbónico es el fluido más empleado para la extracción de PAH's en partículas atmosféricas mediante este tipo de técnica.

Existen ya no pocas publicaciones con buenos resultados, aunque el principal inconveniente es la instrumentación necesaria para desarrollar estos procedimientos que representa un alto coste para la realización de muestras rutinarias de laboratorio.

Tanto el procedimiento soxhlet como el de ultrasonido han sido adoptados por las normas internacionales: La técnica de soxhlet por la American Society for Testing and Materials (ASTM) en la determinación de PAH's en la materia particulada del aire (185), y la de ultrasonidos es la recomendada por el National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) como método de extracción de partículas en el aire (186).

2.2.7. Estudio experimental de los métodos de soxhlet y ultrasonido con los disolventes seleccionados.

Se ha realizado un estudio experimental aplicando los métodos de soxhlet y ultrasonido y utilizando ciclohexano como agente extractante a doce filtros de fibra de vidrio en blanco en los que se ha depositado un patrón de hidrocarburos aromáticos policíclicos preparado en el laboratorio mediante pesada de las sustancias puras y realizando las diluciones convenientes.

La composición de este patrón así como la concentración de los compuestos se indican a continuación:

	COMPONENTE	CONCENTRACION ng/ μ L	ABREVIATURA
1	Fluoreno	3.9	F
2	Antraceno	4.2	A
3	Pireno	3.5	Py
4	Benzo(a)antraceno	3.1	B(a)A
5	$\beta\beta'$ Binaftilo	12.5	-
6	Benzo(e)pireno	12.5	B(e)P
7	Benzo(a)pireno	5.8	B(a)P
8	Indeno(1,2,3-cd)pireno	12.5	I(1,2,3-cd)P
9	Dibenzo(ah)antraceno	12.5	DB(ah)A
10	Benzo(g,h,i)perileno	8.7	B(g,h,i)P
11	Coroneno	25.0	Cor

A cada uno de los filtros se le añadieron 300 microlitros del patrón y se procedió inmediatamente a la extracción.

Seis de los doce filtros se sometieron durante ocho horas a un proceso de extracción en soxhlet, mientras que los seis restantes se extrajeron por el procedimiento de ultrasonido durante 30 minutos. En ambos casos el agente extractante fué ciclohexano según se ha indicado.

Los filtros extraídos con ultrasonido se centrifugaron durante 15 minutos volviéndose a extraer por el mismo procedimiento durante otros 30 minutos más con un volumen igual de disolvente.

Los doce extractos se concentraron en rotavapor hasta un volumen de aproximadamente 1 mL. Posteriormente se concentraron en corriente de nitrógeno hasta volumen conveniente del orden de microlitros.

El análisis de los extractos se llevó a cabo por cromatografía de gases de alta resolución. El método de inyección fué sin reparto de flujo (splitless), y la inyección se realizó mediante un inyector automático.

La determinación cromatográfica de cada muestra se realizó por duplicado resultando así 24 determinaciones para cada componente.

Los resultados de estas determinaciones para ambos procedimientos están recogidos en la tabla 19. En ella aparecen los valores medios de las áreas obtenidas en un integrador automático para cada compuesto, junto con las áreas correspondientes al patrón. También se reflejan los valores de la desviación estándar relativa así como el porcentaje de recuperación para el procedimiento soxhlet y ultrasonido respectivamente.

Los valores obtenidos indican una buena recuperación de los PAH's estudiados, tanto por el procedimiento soxhlet (71 - 103 %) como para el de ultrasonido (76 - 103 %).

La recuperación del 70 % aproximadamente para el fluoreno y antraceno se debe posiblemente a que son bastante reactivos y volátiles y pueden por tanto evaporarse durante el proceso de extracción, siendo el fenómeno más acentuado

COMPUESTO	x área US	X área SX	X área Patrón	RSD US	RSD SX	RSD Patrón	REC. US	% REC. SX
Fluoreno	373388	350473	487590	6.21	6.10	5.15	76.57	71.87
Antraceno	406450	327560	455817	6.12	11.52	3.27	89.16	71.86
Pireno	388282	395163	437605	4.70	6.36	4.25	88.72	90.30
B(a)A	345328	345621	390765	4.00	4.79	4.24	88.37	88.44
ββ'binaftilo	1317683	1343775	1299300	8.10	4.25	4.33	101.41	103.42
B(e)P	1366016	1330825	1383125	4.78	4.46	4.17	98.76	96.21
B(a)P	603048	520248	690517	2.93	4.99	5.13	87.33	75.34
In(123-cd)P	1240465	1155350	1263100	4.78	3.37	7.67	98.20	91.46
DB(ah)A	984990	789670	947736	4.12	2.58	9.80	103.93	83.32
B(ghi)Per	878987	927710	1093790	5.79	2.96	8.27	80.36	84.81
Coroneno	1060978	1039037	1073400	5.24	7.15	-	98.84	96.79

Tabla 19.- Resultados obtenidos aplicando los procedimientos de Soxhlet y Ultrasonido.

en el procedimiento de soxhlet que en el de ultrasonido.

El estudio se completó realizando una comprobación de las metodologías anteriores con muestras reales, para comprobar la existencia de efectos de tipo matriz cuando los PAH's están asociados a la materia particulada y pueden existir variaciones en la recuperación según se emplee uno u otro procedimiento.

Para ello se tomaron ocho muestras de aerosol atmosférico durante el período

invernal. El filtro donde se depositaron las partículas se dividió en dos partes iguales, una de ellas para ser tratada mediante soxhlet y la otra con ultrasonido.

Ambas mitades se sometieron al tratamiento anteriormente descrito empleando ciclohexano como agente extractante.

Los extractos se inyectaron directamente en el cromatógrafo y los resultados se compararon con un patrón analítico comercial que contiene 21 PAH's desde el naftaleno al benzo(g,h,i)perileno y que se detalla a continuación.

DOS-TRES ANILLOS	Conc ng/ μ L	CINCO ANILLOS	Conc ng/ μ L
Naftaleno	15.5	Benzo(b)fluoranteno	20.0
Bifenilo	14.7	Benzo(k)fluoranteno	16.0
Acenaftileno	17.9	Benzo(e)pireno	16.9
Acenafteno	32.0	Benzo(a)pireno	15.7
Fluoreno	16.3	Perileno	20.1
Fenantreno	17.5	Dibenzo(ah)antraceno	8.3
Antraceno	14.7	Dibenzo(ac)antraceno	8.3
CUATRO ANILLOS	ng/ μ L	SEIS ANILLOS	ng/ μ L
Fluoranteno	21.8	Indeno(1,2,3-cd)pireno	20.0
Pireno	17.9	Benzo(g,h,i)perileno	16.0
Benzo(a)fluoreno	13.4		
Benzo(a)antraceno	11.8		
Criseno	12.8		

Los resultados de estas determinaciones se indican en la Tabla 20. Las concentraciones de los hidrocarburos aromáticos policíclicos se expresan en nanogramos por microlitro para el conjunto de compuestos formados por dos, tres,

cuatro, cinco y seis anillos condensados, reflejando el resultado para los dos procedimientos estudiados.

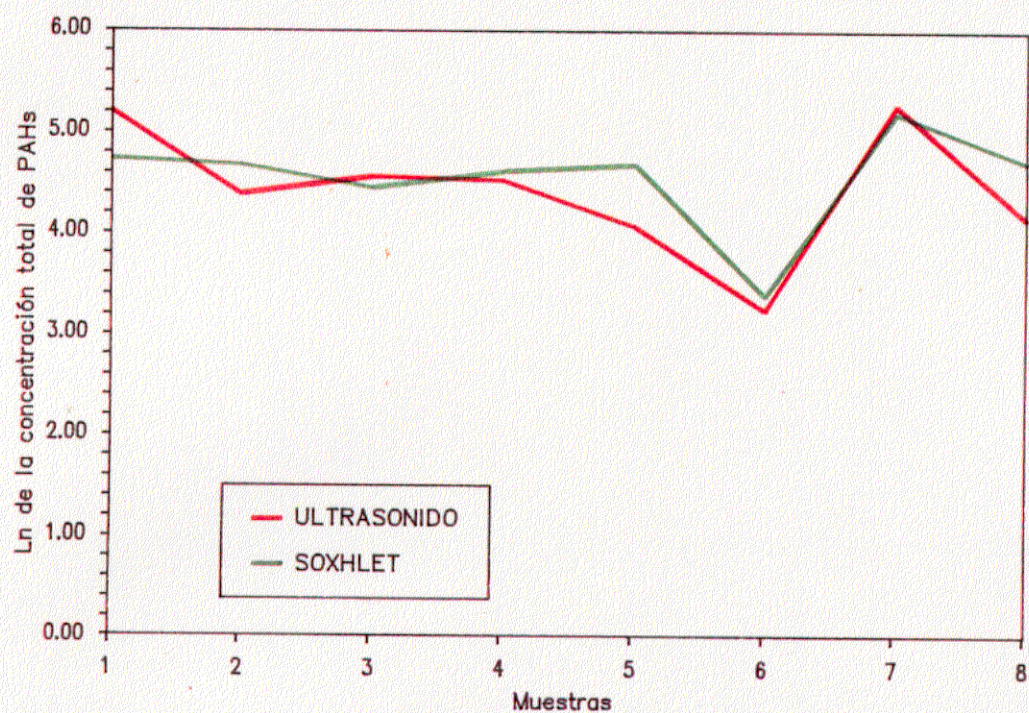
MUESTRA	TECNICA	3 ANILLOS	4 ANILLOS	5 ANILLOS	6 ANILLOS	TOTAL
M - 1	US	9.55	139.80	21.40	12.70	183.35
	SX	9.40	59.90	29.05	15.45	113.70
M - 2	US	7.80	33.35	26.35	12.90	80.40
	SX	29.55	31.70	27.95	17.85	107.05
M - 3	US	20.65	45.95	10.00	1.85	78.45
	SX	25.90	27.85	23.35	8.05	85.15
M - 4	US	21.75	27.90	24.55	18.50	92.70
	SX	20.30	37.60	26.90	16.15	100.95
M - 5	US	9.70	26.35	14.50	8.15	58.70
	SX	18.50	59.90	19.55	10.85	108.80
M - 6	US	3.45	11.20	10.95	-	25.60
	SX	9.45	9.15	10.80	-	29.40
M - 7	US	24.55	136.50	22.15	12.75	195.95
	SX	31.40	109.15	24.35	16.15	185.05
M - 8	US	14.80	37.10	9.85	1.80	63.55
	SX	23.05	62.60	18.95	6.40	11.00

US: Procedimiento Ultrasonido

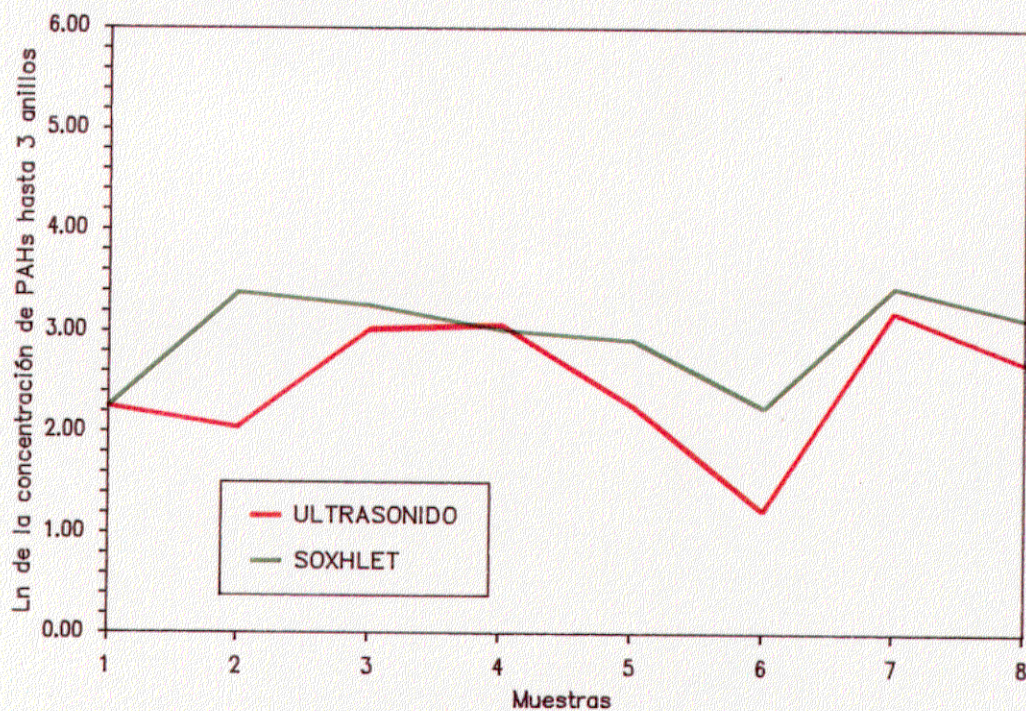
SX: Procedimiento Soxhlet.

Tabla 20. Resultados obtenidos en ng/ μ L para las muestras de aerosol por los procedimientos de Soxhlet y Ultrasonido.

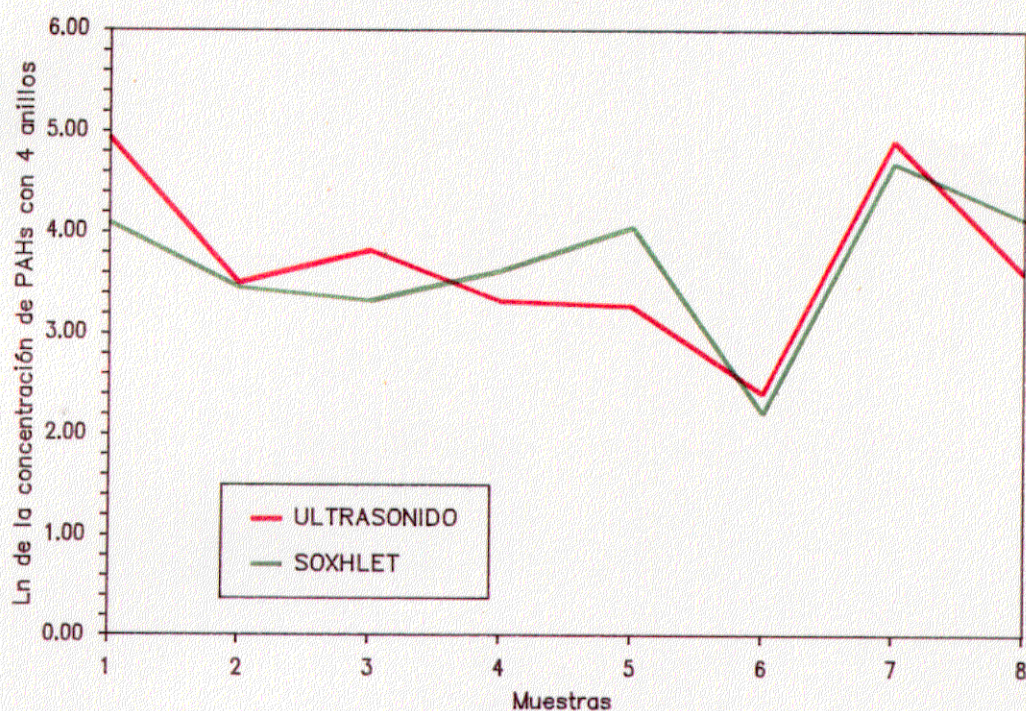
Para apreciar mejor los resultados se ha confeccionado una serie de gráficas que expresan en ordenadas los logaritmos neperianos de las concentraciones dada



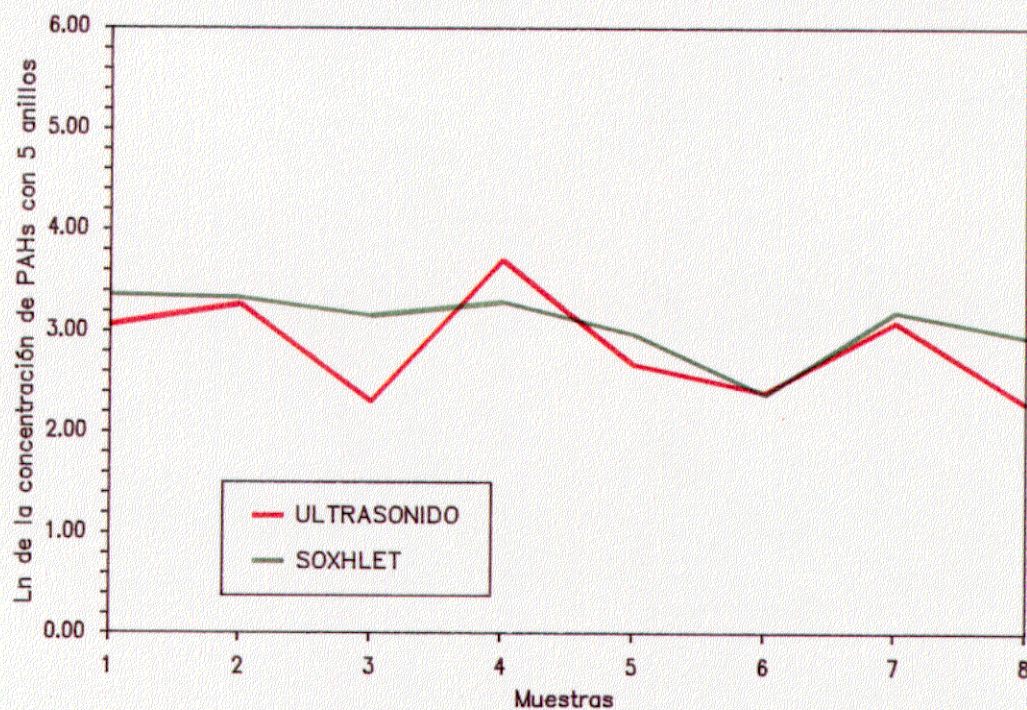
Gráfica 1.- Variación del Ln de la concentración total de PAH's para cada una de las muestras.



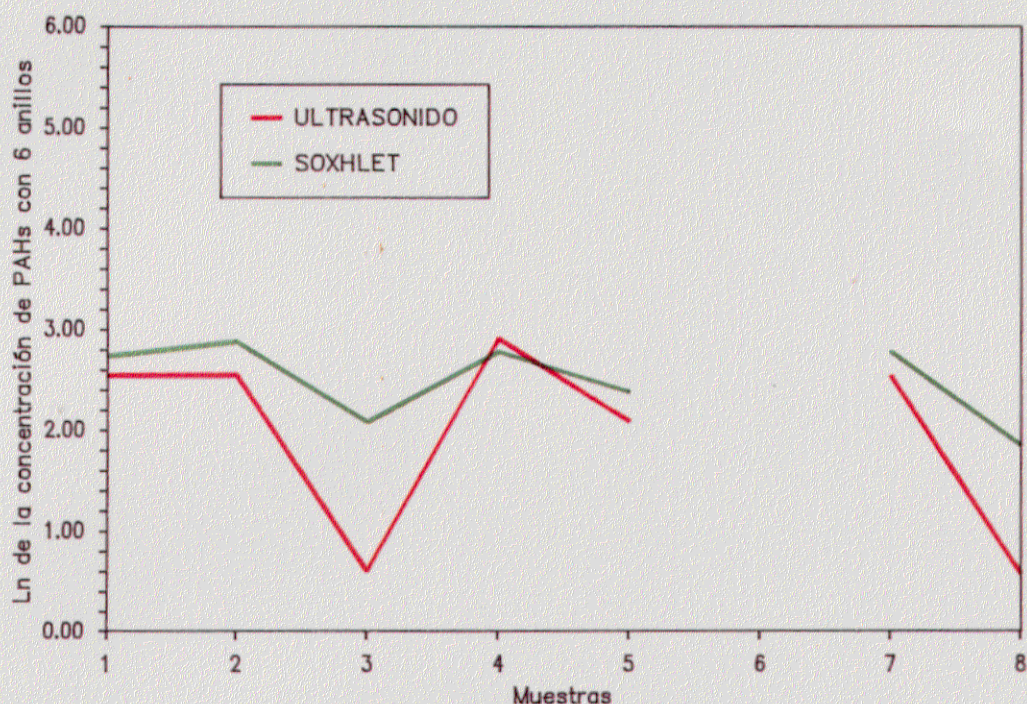
Gráfica 2.- Variación del Ln de la concentración de PAH's de hasta 3 anillos para cada una de las muestras.



Gráfica 3.- Variación del Ln de la concentración de PAH's con 4 anillos para cada una de las muestras.



Gráfica 4.- Variación del Ln de la concentración de PAH's con 5 anillos para cada una de las muestras.



Gráfica 5.- Variación de la concentración de PAH's con 6 anillos para cada una de las muestras.

la diferencia en los valores de unas muestras a otras, mientras que en abscisas se han representado los diferentes muestreos realizados para el total y para cada uno de los grupos de compuestos bencénicos.

Las comparaciones de ambos procedimientos en cada una de las gráficas demuestran que el procedimiento Soxhlet es en general ligeramente superior al ultrasonido en lo que se refiere a la capacidad de extracción, si bien esta diferencia está más acentuada en las gráficas 4 y 5 correspondientes a los compuestos de cinco y seis anillos condensados. Este hecho se explica teniendo en cuenta que los PAH's con múltiples anillos condensados son más difíciles de extraer de la materia particulada, siendo necesarios tiempos de extracción más prolongados. Por el contrario, el procedimiento de ultrasonido que requiere tiempos de extracción más cortos produce rendimientos ligeramente inferiores.

El estudio de la idoneidad de métodos y disolventes se completó con el estudio de la extracción de varias muestras reales empleando el procedimiento de soxhlet que tiene una capacidad mayor de extracción probada, y empleándose dos disolventes de los más utilizados en la bibliografía: ciclohexano y cloruro de metileno.

Se emplearon cinco muestras tomadas en similares condiciones a las empleadas en el estudio anterior y utilizando la misma metodología analítica. Los resultados se indican en la tabla 21. A partir de ésta, se han comprobado los resultados de ambos extractantes con los diferentes grupos (tres, cuatro, cinco y seis anillos condensados).

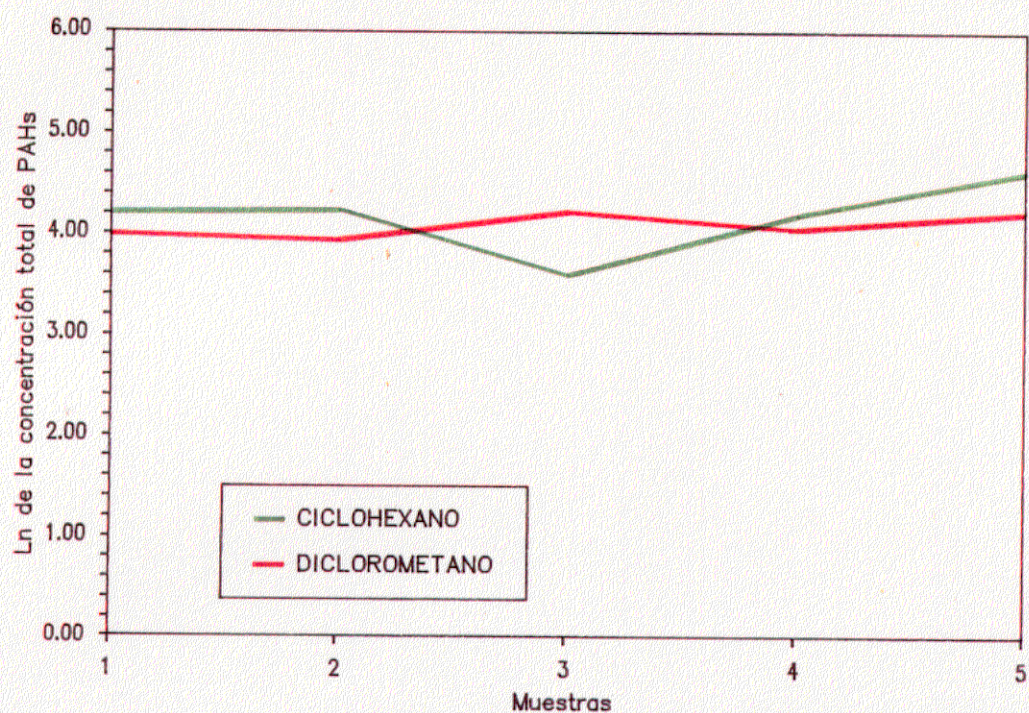
En general se aprecia que el ciclohexano tiene una capacidad de extracción ligeramente superior para el conjunto de las muestras a excepción de la número cuatro. En las gráficas obtenidas, para cada grupo de compuestos se aprecian variaciones de un extractante a otro, si bien el cloruro de metileno tiene la capacidad de poder extraer otros componentes orgánicos de naturaleza más polar que los PAH's.

MUESTRAS	DISOLVENTE	3 ANILLOS	4 ANILLOS	5 ANILLOS	6 ANILLOS	TOTAL
M - 1	CH	18.75	18.40	14.80	14.75	66.70
	CIMe	20.25	9.25	11.25	13.60	54.35
M - 2	CH	21.05	17.25	14.85	15.65	68.80
	CIMe	19.90	6.25	14.80	10.45	51.40
M - 3	CH	22.80	10.90	2.55	-	36.25
	CIMe	19.30	20.20	28.80	-	68.30
M - 4	CH	24.30	20.70	11.70	9.70	66.40
	CIMe	18.65	18.75	19.80	0.70	57.90
M - 5	CH	5.10	45.05	27.70	23.95	101.80
	CIMe	5.35	12.05	34.85	16.45	68.63

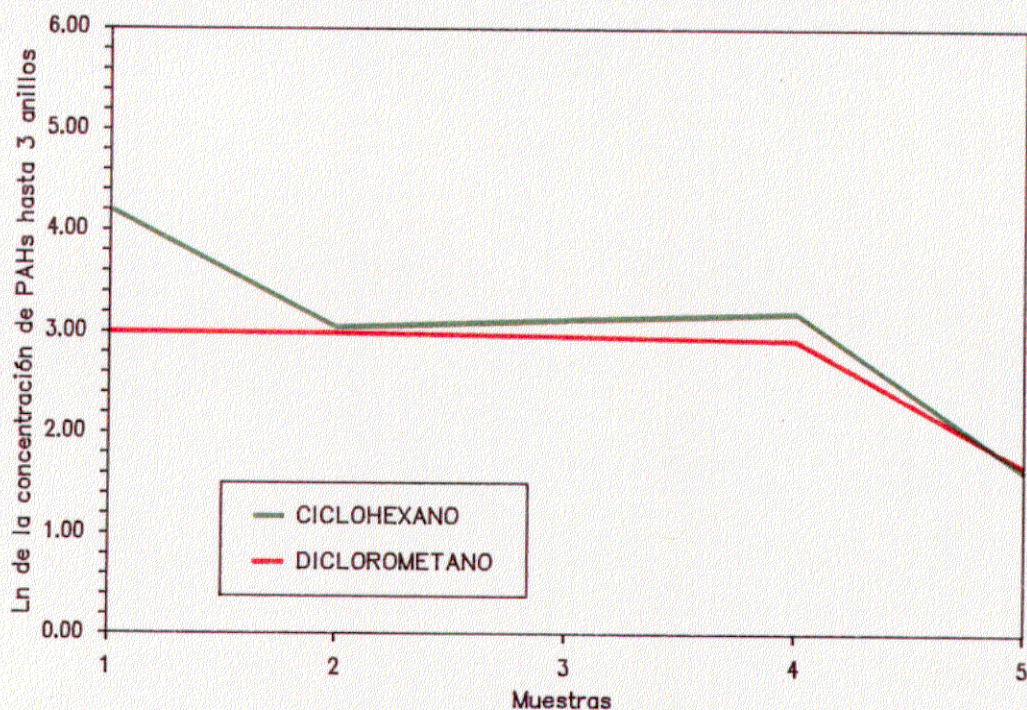
CH : Ciclohexano

CIMe: Cloruro de metileno

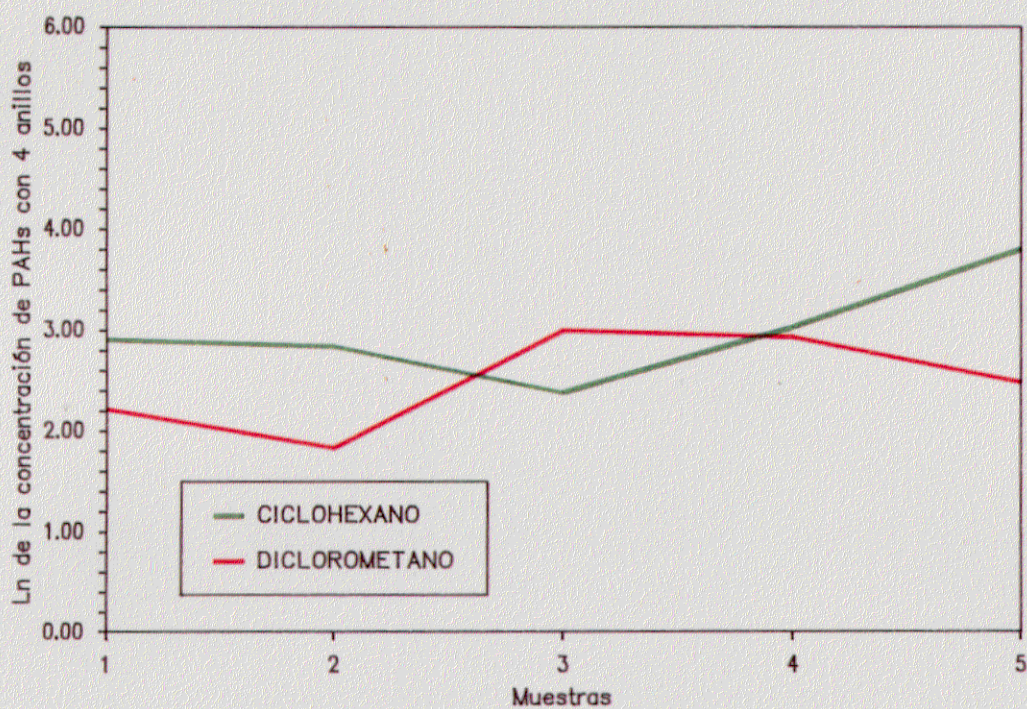
Tabla 21.- Resultados obtenidos en ng/ μ L por el procedimiento Soxhlet con los disolventes ciclohexano y cloruro de metileno.



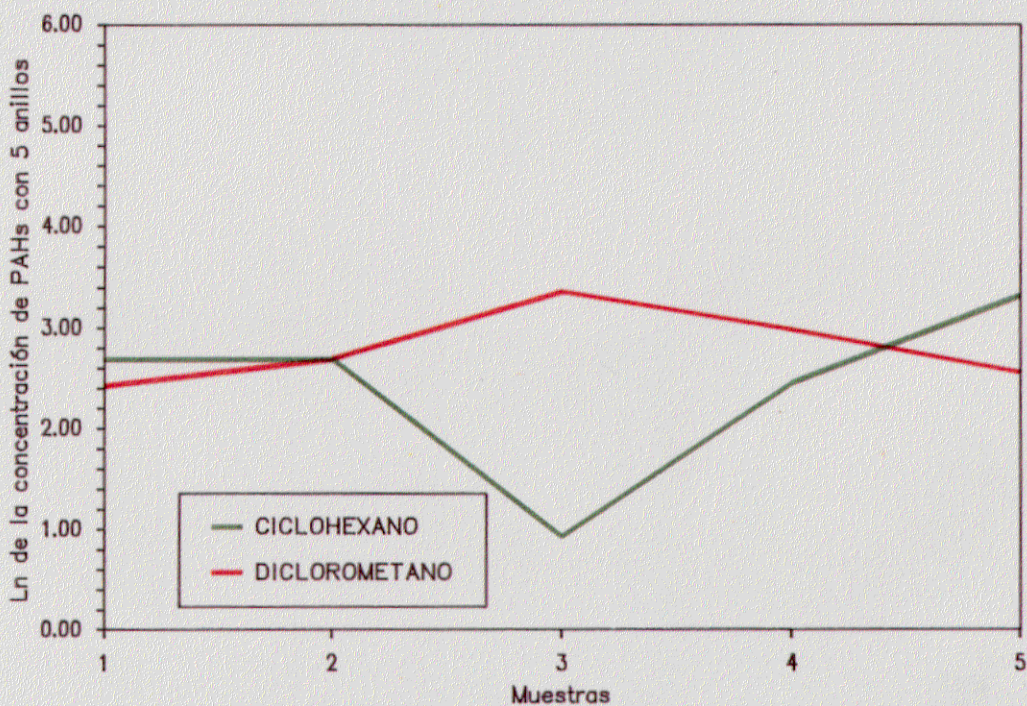
Gráfica 6.- Variación del Ln de la concentración total de PAH's para cada uno de los disolventes utilizados.



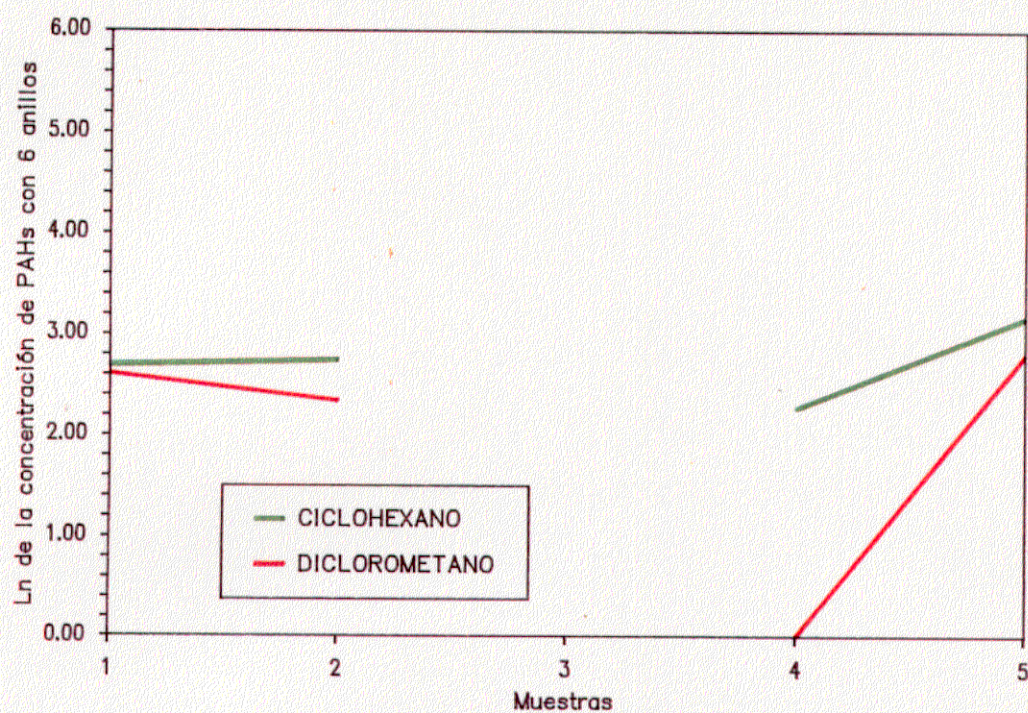
Gráfica 7.- Variación del Ln de la concentración de PAH's de hasta 3 anillos para cada uno de los disolventes utilizados.



Gráfica 8.- Variación del \ln de la concentración de PAH's con 4 anillos para cada uno de los disolventes utilizados.



Gráfica 9.- Variación del \ln de la concentración de PAH's con 5 anillos para cada uno de los disolventes utilizados.



Gráfica 10.- Variación del Ln de la concentración de PAH's con 6 anillos para cada uno de los disolventes utilizados.

2.3. METODOS DE PURIFICACION O CLEAN-UP

2.3.1. Estudio bibliográfico

REVISION BIBLIOGRAFICA			
METODO	REPARTO LIQ./LIQUIDO	ADSORCION CROMATOGRAFICA	CROMATOGRAFIA LIQUIDA (HPLC)
FUNDAMENTO	Reparto de analitos entre dos disolventes de diferente polaridad	Separación de los analitos en los adsorbentes según su polaridad	Separación de los analitos por HPLC
APLICACION	Compuestos polares y apolares	Compuestos polares y apolares	Compuestos polares y apolares
MATERIALES UTILIZADOS	<u>Disolventes:</u> Ciclohexano/Metanol- agua Ciclohexano/DMF-agua Ciclohex./Nitrometano	<u>Adsorbentes:</u> Alúmina Gel de sílice Florisil Biobeads, Shephadex, etc.	Sistemas en fase normal, en columnas de sílice. <u>Eluyentes:</u> Hexano/Diclorometano Hexano/Cloroformo
BIBLIOGRAFIA	Grimmer G.1983(161) May W.E.1984(189) Jaklin J.1986(193)	Avery M.I.1984(204) Keller C.D.1984(112) Simoneit B.1984(27,42) Pyysalo H.1987(126) McVeety B.D.1988(196)	Elsenberg W.1978(210) May W.E.1984(189) Rukmick S.C.1985(212) Naikwadi K.P.1987(209) Davies I.L.1988(211)

Tabla 22.- Resumen bibliográfico. Purificación o clean-up.

2.3.2. Introducción.

Los extractos de muestras ambientales obtenidos por los procedimientos descritos (Apartado 2.2.) contienen cantidades importantes de sustancias que pueden interferir con los compuestos orgánicos que tratamos de separar e identificar por lo que es preciso previamente a su análisis, realizar determinados procesos de purificación.

De entre los numerosos tipos de muestras ambientales, las procedentes de aerosoles atmosféricos, tras la extracción, sólo están constituidas por componentes orgánicos de diferente polaridad, no conteniendo otras sustancias de tipo inorgánico como puedan ser sales o carbón elemental. Por este motivo, el proceso de purificación es más simple que cuando se trata de otras matrices, por ejemplo las de tipo biológico, que hacen necesarios complejos procesos de purificación.

Los métodos de purificación o clean-up están orientados a separar los compuestos por familias químicas, basándose en los diferentes coeficientes de reparto, equilibrios de adsorción-desorción, etc que los compuestos presentan frente a distintos disolventes, adsorbentes, etc.

2.3.3. Descripción de los procedimientos de purificación o clean-up más utilizados en la actualidad.

Los procedimientos de purificación más utilizados son fundamentalmente:

- a) Reparto líquido-líquido
- b) Adsorción y partición en columna cromatográfica clásica
- c) Elución en columna por procedimientos de HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia)

a) Reparto líquido-líquido

Unos determinados grupos de compuestos como son los PAH's, los hidrocarburos alifáticos, y algunos otros pueden separarse del resto de los compuestos presentes en muestras atmosféricas por un proceso de reparto entre un disolvente en el que se encuentran, generalmente de tipo apolar y un segundo disolvente no miscible con el anterior de naturaleza polar.

Si el coeficiente de reparto de un determinado grupo de compuestos se diferencia de forma notoria de los del resto de los componentes, podrá ser retenido sin dificultad en el disolvente más afín con el consiguiente enriquecimiento del mismo en el disolvente.

Estas técnicas de reparto se empezaron a emplear en los inicios del estudio del aerosol lográndose resultados interesantes para la separación de hidrocarburos aromáticos policíclicos de otras sustancias con la utilización de metanol (187), nitrometano (187) acetona (188), dimetilformamida (189) o dimetilsulfóxido (190).

Se separaron igualmente compuestos hidrofílicos o polares de soluciones de ciclohexano añadiendo mezclas de metanol-agua o acetona-agua, con lo que los compuestos de tipo neutro quedaban en el ciclohexano por ser más afines a él y permaneciendo el resto en el disolvente polar.

Grimmer, a partir de revisiones bibliográficas, señala que para la separación de hidrocarburos aromáticos de hidrocarburos alifáticos están indicadas combinaciones binarias como ciclohexano-nitrometano (1:1), o ternarias como ciclohexano-metanol-agua (10:9:1) o ciclohexano-dimetilformamida-agua (5:9:1)(43).

Estudios de eficacia de separación demuestran que son necesarias tres extracciones para obtener una recuperación de 95.78 % para 14 PAH's ensayados con la combinación ciclohexano-nitrometano y dos extracciones para la com-

binación ciclohexano-metanol-agua con una recuperación de 95.14 %. Mediante la tercera combinación, ciclohexano-dimetilformamida-agua, se consiguió una recuperación de 90.71 % con una sola extracción.

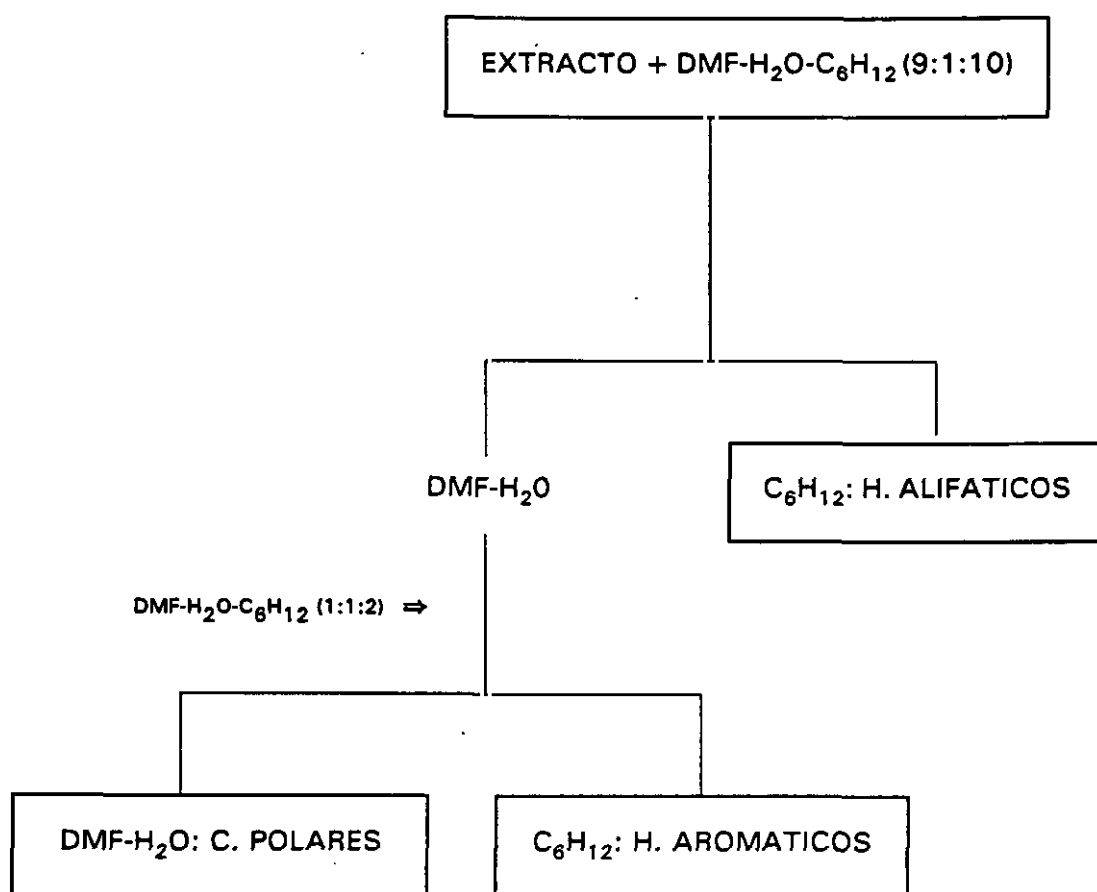
El reparto entre ciclohexano y dimetilformamida-agua se ha empleado en numerosos estudios del aerosol e incluso en otros tipos de purificaciones (36)(189)(190)(191).

Otra alternativa para la extracción de PAH's desde un disolvente de tipo apolar, es el empleo de dimetilsulfóxido. Los coeficientes de reparto son más favorables que en el caso del nitrometano debido a la interacción del átomo de azufre y los electrones del sistema aromático. La separación de los PAH's se realiza por medio de una dilución con agua y posterior extracción con ciclohexano (192). El sistema no es tan efectivo cuando se quiere también separar metilderivados de los PAH's que inducen en la densidad electrónica del anillo.

Los métodos de reparto líquido-líquido requieren separaciones minuciosas y precisas de las fases, pues de lo contrario, los componentes a separar pueden quedar repartidos entre ambos disolventes. Una separación defectuosa llevaría implícito el reparto de los componentes entre los disolventes, efecto que podría agravarse si a la vez se producen emulsiones durante la agitación. Para evitarla y conseguir una separación correcta se precisa dejar en reposo durante largos períodos de tiempo.

Este procedimiento de separación conlleva asimismo, a parte de una minuciosa manipulación, la utilización de material diverso de vidrio como embudos de decantación, matraces, centrífugas, etc, y no poco tiempo para las sucesivas etapas de separación.

El esquema de un proceso de este tipo de separaciones se representa a continuación.



Cuanto más largo sea el procedimiento de separación, mayores posibilidades existen de pérdida y de contaminación de extractos. Jaklin ha estudiado este tipo de pérdidas y ha observado que aumentan a medida que disminuye el peso molecular: 10 % para el coroneno, $P_m = 300$ y un 43% para el naftaleno, $P_m = 128$ (193).

Este procedimiento requiere extracciones repetitivas, siendo necesario además emplear otras técnicas complementarias, como es la HPLC en fase normal, para separar de la fracción aromática, en la que se encuentran los PAH's, otros compuestos de naturaleza aromática.

b) Métodos cromatográficos mediante columnas abiertas rellenas de adsorbentes.

La adsorción cromatográfica en columnas clásicas de relleno con distintos adsorbentes: gel de sílice, alúmina o florisil, se emplea habitualmente para la separación de compuestos orgánicos presentes en un determinado extracto en el que se hace necesaria una separación por clases de compuestos.

La separación de una mezcla de sustancias en una columna cromatográfica es el resultado de dos procesos distintos que se producen en la misma: en primer lugar, cada soluto se mueve formando bandas separadas y segundo, las bandas se mantienen lo suficientemente estrechas como para permitir la elución discreta de cada uno de los solutos.

El movimiento de cada soluto dependerá de la capacidad de interacción de cada uno de ellos con la fase estacionaria. Cuanto mayor sea la atracción por la fase estacionaria más fuertemente será retenido el compuesto por la columna. Aquellos analitos que interaccionen más fuertemente con la fase móvil serán eluidos más rápidamente de la misma.

La retención de los solutos o la selectividad de la columna dependerá de la naturaleza y del alcance de las fuerzas intermoleculares entre el soluto y la fase estacionaria (194).

Una de las propiedades fundamentales de estos adsorbentes es su alta capacidad de adsorción que puede conducir a pérdidas de analitos por una degradación catalítica o una adsorción irreversible que provoca un ensanchamiento de la banda cromatográfica y a pobres recuperaciones por un solapamiento entre distintos componentes (195).

La adición de agua a un determinado adsorbente se conoce como desactivación. Este proceso proporciona más eficacia al relleno, reduce las reacciones

que se puedan producir entre el soluto y el adsorbente y disminuye la cola de los solutos, mientras que como contrapartida reduce la selectividad. Un desajuste en el porcentaje de agua puede ser la causa de recuperaciones incorrectas. Los porcentajes de desactivación de la gel de sílice oscilan entre 5 - 8 %.

2.3.4. Descripción de los adsorbentes más utilizados

De entre los adsorbentes que se emplean para los procesos de clean-up, la gel de sílice es uno de los más utilizados para la separación de compuestos en columna de relleno (112)(126)(196)(197).

La gel de sílice es sílice amorfa que se prepara haciendo reaccionar silicato sódico con ácido clorhídrico o descomponiendo tetracloruro de silicona con agua y calentando el gel resultante. Las características de este gel de sílice por lo que respecta al tamaño, volumen del poro y área superficial, etc, dependen del procedimiento seguido para su preparación.

El agua que contiene la gel de sílice puede estar adsorbida o formando parte de su estructura. En el primer caso puede perderse a temperaturas por debajo de los 150° C, pero sin embargo para eliminar totalmente el agua estructural se precisan temperaturas del orden de los 400-600° C. Con la pérdida de agua se produce una pérdida de peso que oscila entre 4.8 % a 110° C y 8.5 % a 1100° C.

El proceso de elución en columna, con un relleno de este tipo, se divide en tres etapas: la primera utiliza un disolvente apolar, hexano generalmente, que arrastra los compuestos menos polares como son los hidrocarburos alifáticos. Una segunda elución, mezclando dos disolventes, hexano/ diclorometano en la que se eluyen los hidrocarburos aromáticos, y una tercera elución, con diclorometano o mezclas diclorometano/metanol, en la que se arrastran los compuestos más polares.

La alúmina es otro adsorbente muy utilizado para muestras ambientales (198)(199)(200). Se trata de una mezcla de γ alúmina con un pequeño porcentaje de $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Se prepara deshidratando la alúmina (óxido de aluminio trihidratado) a temperaturas del orden de 700°C . Si se calienta por encima de los 900°C se produce una deshidratación total dando como resultado la α alúmina que es menos activa. Cuando la alúmina está recién preparada es muy activa, pero rápidamente puede disminuir su actividad al absorber agua de la atmósfera.

La alúmina presenta una gran variedad de tamaños, grados, pH y actividades. El grado de desactivación necesaria antes de su empleo puede variar entre 0 -15 %, Este porcentaje es prefijado de acuerdo con la naturaleza de los compuestos que se quiera separar.

El tiempo de elución en general es superior al que presenta la gel de sílice que es más porosa, circunstancia desfavorable para compuestos susceptibles de descomposición sobre el adsorbente.

Este adsorbente es también difícil de estandarizar para la reproducción de las mismas eluciones de un lote a otro. La relación muestra/adsorbente oscila entre 1:100 y 1:1000, mientras que para la gel de sílice esta relación oscila entre 1:50 y 1:500.

Todos los analitos orgánicos a excepción de los hidrocarburos alifáticos son adsorbidos más o menos por la alúmina dependiendo de la polaridad que presente la propia alúmina. Los PAH's también son adsorbidos aunque no son polares debido a que se produce un enlazamiento entre los electrones de los núcleos aromáticos y los átomos de aluminio reteniéndose más que los hidrocarburos alifáticos.

Hay autores que han combinado la gel de sílice y la alúmina para producir mejores recuperaciones, la desventaja de esta modificación es que al aumentar mucho el relleno de la columna se incrementa el tiempo de elución. Estas combinaciones son útiles para muestras que presentan muchas impurezas como

las muestras biológicas (200)(201)(202).

Otro adsorbente empleado en la separación de compuestos del aerosol atmosférico es el florisil, cuya composición química es la de un silicato de magnesio de naturaleza sintética.

Su utilización no está tan extendida como la de la alúmina y la gel de sílice, habiéndose limitado su empleo de modo general a la separación de pesticidas, aunque también se ha utilizado para separar PAH's y pesticidas en muestras ambientales (203)(204)(205). Se da además la circunstancia de que el florisil produce muy bajas recuperaciones para algunos PAH's en particular, como es el caso del perileno (204).

Tras la separación de los PAH's de los diferentes compuestos mediante una columna clásica de alúmina o sílice es posible la separación de los diferentes PAH's mediante una elución en función del número de anillos que tenga cada uno de los componentes de una mezcla de diferentes PAH's.

Esta técnica se conoce como cromatografía de permeación sobre geles, cromatografía de tamices moleculares o exclusión cromatográfica (165)(188), y se basa en el empleo de unas sustancias de naturaleza orgánica y carácter lipofílico en el interior de una columna cromatográfica clásica.

Para la purificación de este tipo de extractos se han empleado dos geles diferentes: el Bio-Beads y el Sephadex LH-20.

El Biobeads es un copolímero poroso y neutro de estireno - divinilbenceno, mientras que el Sephadex LH-20 es un polisacárido (dextran - propilhidroxilado) de naturaleza polar.

Se ha postulado la existencia de dos fenómenos que explican la elución de este tipo de geles:

- a: La estructura de los geles presenta unos poros a través de los cuales se introducen las moléculas de los analitos junto con el disolvente. Las moléculas

de menor tamaño son retenidas durante un tiempo mayor en la columna que las moléculas más grandes que no son capaces de atravesar las redes del gel tan rápidamente. El orden de elución de la columna está pues en relación inversa al tamaño de las moléculas, de manera que los PAH's de mayor número de anillos bencénicos en su estructura eluirán antes que los de menor tamaño molecular. Este orden de elución es contrario al orden de elución en las columnas clásicas de adsorción.

Además de los parámetros que influyen en la cromatografía de adsorción, en este tipo de cromatografía juega un papel importante el tamaño efectivo de la molécula.

- b: Pueden producirse fenómenos de adsorción, entonces el orden de elución de los PAH's está en relación directa con el número de anillos bencénicos de su molécula. Streuli (206) sugiere que puesto que los PAH's son bases ricas en electrones, el efecto de adsorción se puede entender a través de la formación de complejos ácido-base de Lewis entre la relativamente densa y localizada nube electrónica π de los PAH's y lugares apropiados en la matriz del gel, como pueden ser los anillos bencénicos de los biobeds o grupos éter o hidroxilo de los sephadex LH-20.

Cuando se eluye con disolventes tipo tetrahidofurano, dimetilformamida o dimetilamina utilizando biobeads, el orden de elución es de mayor a menor tamaño molecular (exclusión estérica). Cuando se emplean disolventes como diclorometano, benceno o acetona, el orden de elución se invierte (adsorción).

Para el caso de geles sephadex LH-20 se produce exclusión estérica con los disolventes similares a los empleados con el biobeads y adsorción con metanol, isopropanol o acetonitrilo.

El fraccionamiento de los PAH's conseguido con este tipo de tamices moleculares requiere previamente una purificación en columnas clásicas de

adsorción. Además este procedimiento precisa volúmenes de elución grandes, incluso mayores de 100 mL, lo que obliga a realizar tediosas concentraciones en rotavapor antes de proceder al análisis cromatográfico. Unido esto al gasto de disolventes y de los propios tamices, cuyo costo es muy superior a los adsorbentes convencionales, hace que esta técnica sea poco recomendable para análisis de rutina o cuando se maneja un elevado número de muestras, ya que el empleo de métodos cromatográficos de alta resolución (HRGC y HPLC) permite separar eficazmente los compuestos en función de su naturaleza química, no siendo absolutamente necesaria esta separación previa de PAH's que prolonga extraordinariamente el análisis.

Actualmente la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución está siendo empleada para la purificación de extractos procedentes de partículas atmosféricas, partículas diesel, industriales, etc (193). La utilidad de esta técnica se basa en la separación por clases fundamentalmente: hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, poliheteroátomos (S-PAH, N-PAH, O-PAH) etc. Mediante esta técnica los compuestos de una misma familia eluyen juntos.

Algunos autores han empleado la cromatografía líquida de baja resolución utilizando columnas semipreparativas de alúmina (207) y sílice desactivada para eliminar los compuestos más polares previo al análisis cromatográfico por HRGC (208). También mediante esta técnica de HPLC se han separado, de una fracción neutra, los hidrocarburos alifáticos de los aromáticos empleando fase normal en HPLC (209).

De la revisión bibliográfica se deduce que las columnas más efectivas para la separación de PAH's de la fracción neutra son del tipo μ -Bondpack-NH₂, μ -Bondpack-CN, μ -porasil o nucleosil-NO₂ (210)(211)(212).

Los disolventes empleados con esta técnica en fase normal son fundamentalmente: n-hexano, n-heptano o ciclohexano; y cuando se realiza un gradiente se

efectúa con cloroformo o cloruro de metileno.

Los extractos procedentes de la elución en fase normal mediante HPLC contienen separadamente hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos que posteriormente se analizan por cromatografía de gases o por HPLC en fase reversa.

En este trabajo se ha empleado para la purificación de los extractos la columna clásica rellena de gel de sílice como método estándar.

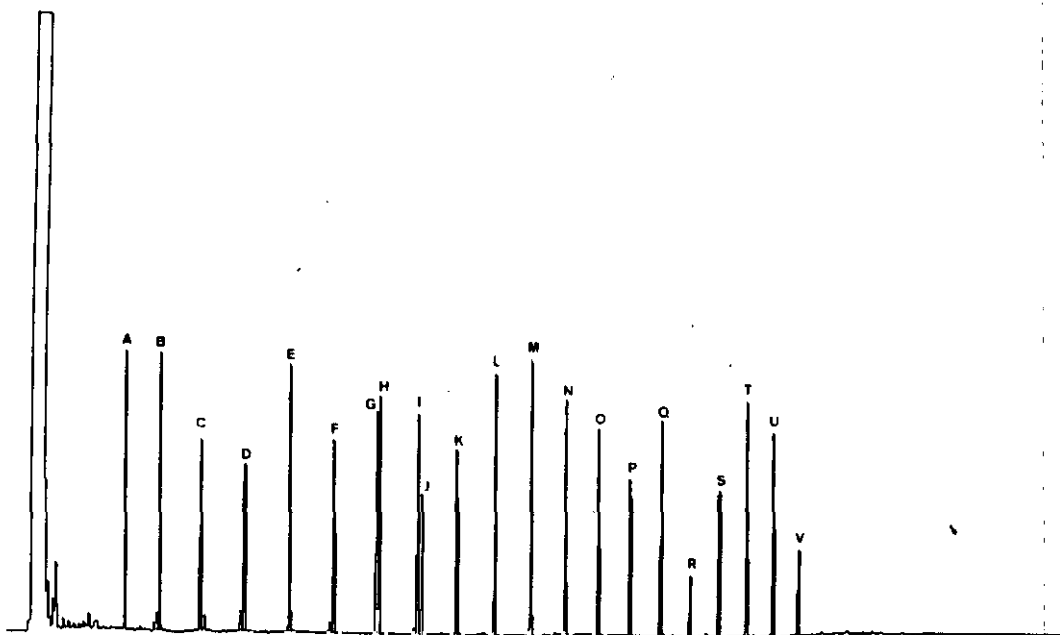
2.3.5. Estudio experimental de la purificación o clean-up de los extractos del aerosol.

Para comprobar la eficacia del procedimiento se ha realizado un estudio de recuperación mediante un patrón que contiene la serie alifática desde el C_{11} al C_{30} e hidrocarburos aromáticos desde el metil-naftaleno al benzo(ghi)perileno, para determinar qué cantidad de disolvente es necesario emplear para eluir separadamente cada familia de compuestos.

Para eluir todos los hidrocarburos alifáticos, fué necesario emplear aproximadamente 30 mL de hexano (cromatograma 1).

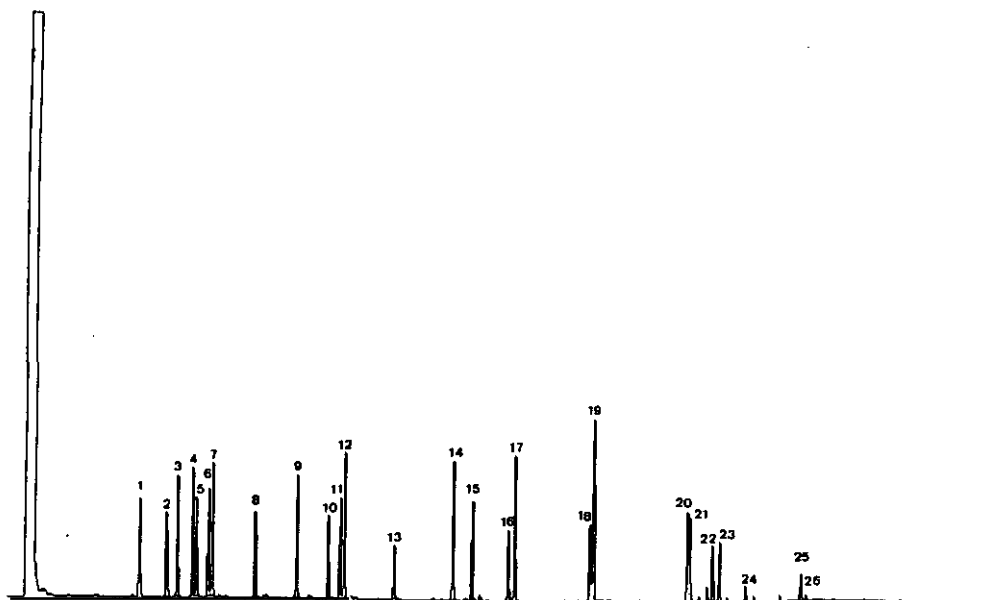
Una segunda fracción constituida por hexano/diclorometano (4:1) eluye completamente toda la serie de hidrocarburos aromáticos, siendo 40 mL el volumen de elución. El movimiento de la banda cromatográfica de la segunda fracción correspondiente a los PAH's es fácil de observar sometiendo la columna a la acción de la luz ultravioleta. El resultado aparece en el cromatograma 2.

El cromatograma 3 representa la fracción tercera, obtenida con 40 mL de Cl_2CH_2 , en que se puede apreciar que los hidrocarburos aromáticos policíclicos



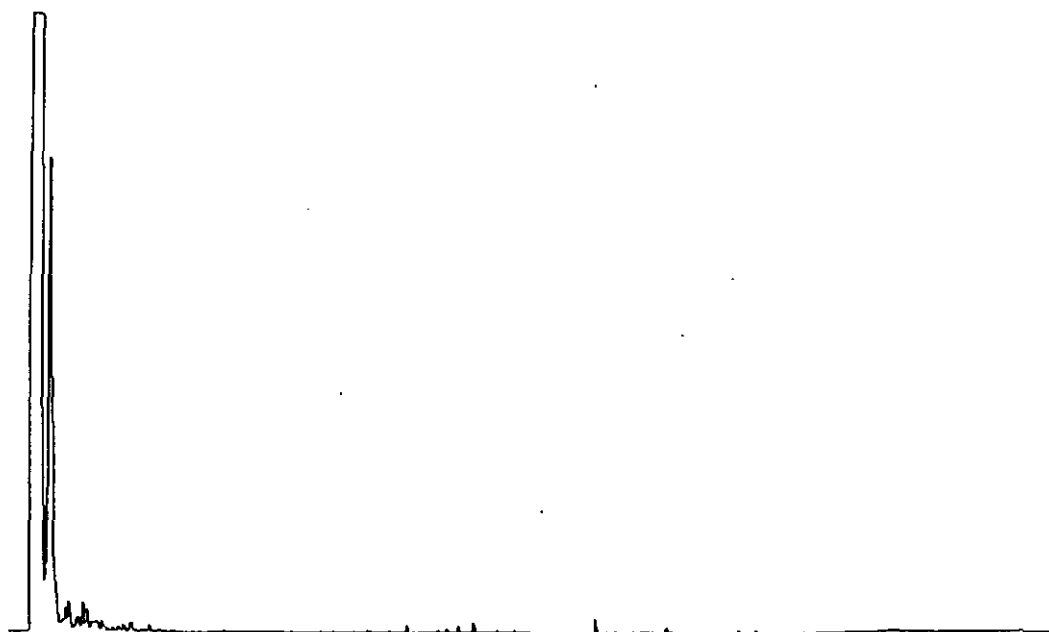
Cromatograma 1.- Fracción 1: Hidrocarburos alifáticos.

A = nC₁₁, B = nC₁₂, C = nC₁₃, D = nC₁₄, E = nC₁₅, F = nC₁₆, G = nC₁₇, H = Pristeno, I = nC₁₈, J = Fitano, K = nC₁₉, L = nC₂₀, M = nC₂₁, N = nC₂₂, O = nC₂₃, P = nC₂₄, Q = nC₂₅, R = nC₂₆, S = nC₂₇, T = nC₂₈, U = nC₂₉, V = nC₃₀.

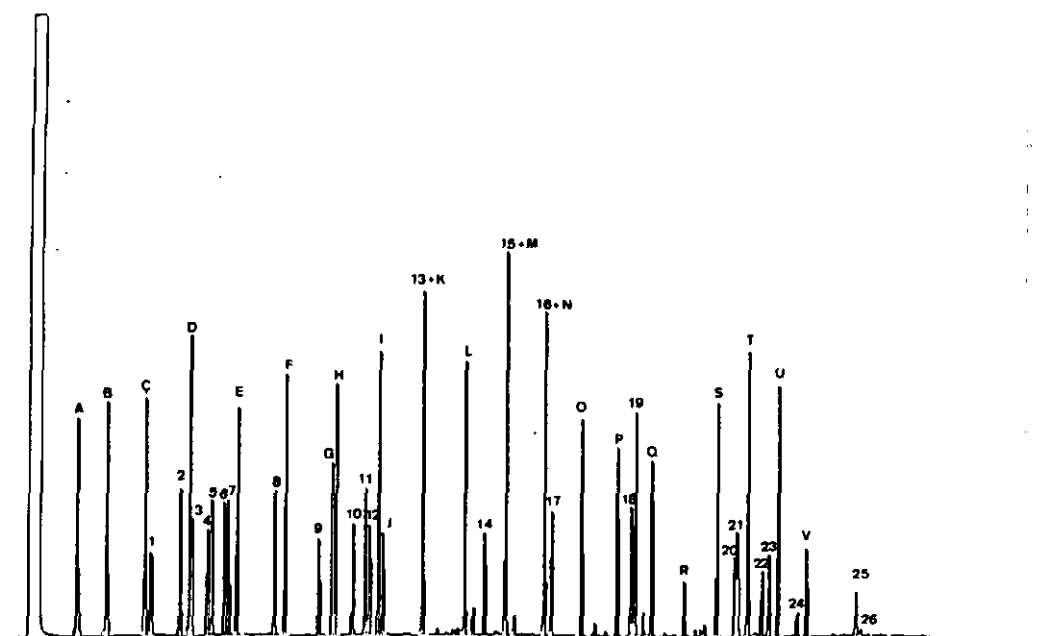


Cromatograma 2.- Fracción 2: Hidrocarburos aromáticos.

1 = 1M.Naftaleno, 2 = Bifenilo, 3 = 2,6DM.Naftaleno, 4 = 2,3DM.Naftaleno, 5 = Acenaftileno, 6 = 1,8DM.Naftaleno, 7 = Acenafteno, 8 = Fluoreno, 9 = 9,10D.HidroAntraceno, 10 = Dibenzotiofeno, 11 = Fenantreno, 12 = Antraceno, 13 = 2M.Antraceno, 14 = Fluoranteno, 15 = Pireno, 16 = B(a)Fluoreno, 17 = B(b)Fluoreno, 18 = B(a)Antraceno, 19 = Criseno + Trifenileno, 20 = B(b)Fluoranteno, 21 = B(k)Fluoranteno, 22 = B(e)Pireno, 23 = B(a)Pireno, 24 = Perileno, 25 = DB(ac + ah)Antraceno, 26 = B(g,h,i)Perileno.



Cromatograma 3.- Fracción 3.



Cromatograma 4.- Patrón con Hidrocarburos alifáticos y aromáticos.

Los signos de identificación se corresponden con los de los cromatogramas 1 y 2.

COMPUESTO	\bar{x} (N=6)	SRD	% REC.	COMPUESTO	\bar{x} (N=6)	SRD	% REC.
C ₁₁	21.4	5.5	85.9	1-Me-Naftaleno	11.6	7.7	91.2
C ₁₂	21.8	3.6	88.6	Bifenilo	11.8	3.3	94.2
C ₁₃	22.3	2.6	90.6	2,6 diMe-Naftaleno	11.9	3.9	[1]
C ₁₄	24.9	2.4	[1]	2,3 diMe-Naftaleno	13.2	2.8	96.5
C ₁₅	23.3	1.4	93.8	1,8 diMe-Naftaleno	13.5	2.6	97.6
C ₁₆	23.0	1.2	92.7	Acenafteno	13.3	2.7	96.9
C ₁₇	23.8	1.3	94.1	Fluoreno	12.0	2.7	98.0
PRISTANO	21.0	1.2	95.0	Dibenzotiofeno	11.1	2.8	92.3
C ₁₈	23.7	1.2	94.4	Fenantreno	10.7	2.3	98.6
FITANO	12.9	1.2	95.6	Antraceno	12.6	2.6	88.2
C ₁₉	26.0	1.3	[2]	2 Me-Antraceno	5.6	3.5	[2]
C ₂₀	23.5	1.2	94.4	Fluoranteno	11.5	2.4	99.9
C ₂₁	23.8	1.3	[3]	Pireno	11.9	2.0	[3]
C ₂₂	22.9	1.2	[4]	B(a)Fluoreno	5.3	2.8	[4]
C ₂₃	22.7	1.4	94.2	B(b)Fluoreno	11.2	3.1	96.6
C ₂₄	22.3	1.3	92.5	B(a)Antraceno	10.8	2.6	93.6
C ₂₅	22.5	1.4	93.7	Cris + Trifenileno	22.7	2.4	97.6
C ₂₆	4.8	3.3	94.1	B(b)Fluoranteno	13.1	3.9	102.3
C ₂₇	20.2	1.4	92.7	B(k)Fluoranteno	15.6	5.0	62.0
C ₂₈	21.9	1.4	90.5	B(a)Pireno	7.9	4.3	80.9
C ₂₉	22.0	1.3	89.8	Perileno	8.0	5.4	79.6
C ₃₀	8.9	1.5	87.2	Dibenzoantraceno	8.0	10.0	70.0
V. medio	-	-	93.2	Benzo(ghi)Perileno	2.0	2.5	92.0

Tabla 23.- Recuperación de los hidrocarburos estudiados.

[] Coelución del H. alifático y el H. aromático

han sido eluidos totalmente en la segunda fracción.

En el cromatograma 4 se representa la mezcla de hidrocarburos aromáticos y alifáticos antes de realizar el clean-up.

La tabla 23 representa la recuperación para todos los hidrocarburos estudiados. Como puede observarse, la recuperación para los hidrocarburos alifáticos es de un 92.3% de media, mientras que para los hidrocarburos aromáticos el valor medio es aproximadamente 91%, si bien para el benzo(k)fluoranteno es de un 62%, debido a la dificultad de integración por la proximidad de su homólogo benzo(b)fluoranteno que tiene un valor de 102.3%.

2.4. SEPARACIÓN E IDENTIFICACION DE HIDROCARBUROS ALIFATICOS Y AROMATICOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ALTA RESOLUCIÓN HRGC

2.4.1. Estudio bibliográfico

REVISION BIBLIOGRAFICA			
UTILIZACION	TIPOS	APLICACIONES	BIBLIOGRAFIA
COLUMNAS	Silice fundida: SE-30, SE-52, SE-54 Carbowax-20M Cristales líquidos: MBMP	Determinación de: H.Aromáticos, Alifáticos, Comp. polares, en el aerosol atmosférico	Lee M.L.1980 (226) Lee M.L.1981 (223) Nishioka M.1986 (232) Grob K.1988 (224) Janini G.M.1988 (233)
DETECTORES	FID FPD ECD PID E. MASAS	Compuestos con C y H Compuestos con P y S Comp. con halógenos Compuestos con C y H Compuestos en general	Bjorseth A.1979 (237) Arnold J.E.1982 (238) Karasek F.1988 (250) Hites R.A.1989 (251)
TECNICAS DE INYECCION Manual/automático	Split Splitless On-column	Evita saturación en columna. Determinación de trazas Evita descomp.térmica y discriminaciones	Grob K.1969 (240) Grob K.1986 (241) Grob K.1978 (242)
TECNICAS DE CUANTIFICACION Manuales/automáticas	P. interno P. externo	Resultados analíticos	Novak J. 1988 (252) Guiochon G.1988(253)

Tabla 24.- Técnicas cromatográficas.

2.4.2. Introducción.

En cualquier método analítico ha de tenerse en consideración no solo la sensibilidad y precisión del mismo, sino también el tiempo de análisis y su simplicidad. La cromatografía de gases es la técnica de separación por excelencia para un gran número de componentes y por tanto es prácticamente el único método actualmente que utilizado por sí mismo o en combinación con otras técnicas afines resuelve el análisis de mezclas complejas de compuestos orgánicos de muy diferente naturaleza y procedencia, de forma rápida y selectiva si bien esta técnica presenta una cierta complejidad operativa.

Estas características han permitido que estas técnicas cromatográficas hayan sido adoptadas en numerosos laboratorios y organismos a nivel nacional e internacional (213)(214)(215)(216).

La cromatografía de gases de alta resolución, con su rápido y creciente desarrollo instrumental, con la tecnología de columnas capilares de vidrio, sílice fundida o cristal líquido, unido a las nuevas técnicas de inyección, se está imponiendo como el medio analítico más generalizado e imprescindible en este tipo de análisis.

2.4.3. Instrumentación.

2.4.3.1. Columnas

Las fracciones procedentes de los procesos de extracción tras su purificación y enriquecimiento contienen un gran número de componentes que no pueden ser identificados al menos que se posea un método que permita una auténtica separación de todos los componentes para una correcta cuantificación posterior.

Esto no ha sido posible hasta que M. Golay en 1957 introdujera las columnas abiertas que permitían frente a las columnas clásicas una mayor capacidad de separación y eficacia. Esta nueva dimensión abre un campo ilimitado a la resolución de problemas analíticos basados en la complejidad o en la naturaleza isomérica de los compuestos a separar y que no podían ser resueltos en columnas clásicas de relleno (191)(217)(218)(219).

Las columnas sin relleno, también denominadas W.C.O.T (wall coated open tubular) son en esencia tubos capilares de gran longitud que han sido recubiertos en su interior con una pequeña cantidad de fase estacionaria. La fase líquida está depositada directamente en el interior del tubo capilar o ligada químicamente a la pared capilar, no necesitando por tanto el apoyo de ninguna sustancia considerada como soporte. La ausencia de relleno permite una gran permeabilidad gaseosa específica (220)(221).

En este tipo de columnas la polaridad de la fase líquida no es tan crítica como en las de relleno en las que debido a su baja resolución, es necesario para conseguir una selectividad adecuada ensayar un gran número de fases estacionarias.

De hecho, existen pocas fases estacionarias para columnas capilares frente al amplio catálogo de fases para columnas de relleno. En la Tabla 25 se indican algunas de las diferencias existentes entre ambos tipos de columnas.

Como puede apreciarse, existen no pocas diferencias entre ambos tipos de columnas, como ejemplo tenemos el número de platos teóricos que pasa de 5000 para una columna de relleno de 2 metros a 150000 para una columna capilar de 50 metros.

Las columnas capilares presentaban al principio una menor reproducibilidad, eran frágiles, poseían una escasa capacidad de muestra siendo restringidas sus aplicaciones, pero con el desarrollo de las nuevas técnicas de introducción de

COLUMNAS	DE RELLENO	CAPILARES
LONGITUD: metros	1 - 6	5 - 100
DIAMETRO INTERIOR: mm	2 - 4	0.2 - 0.7
FLUJO: mL/min	10 - 60	0.5 - 15
CAIDA DE PRESION: psi	10 - 40	3 - 40
PERMEABILIDAD ESPECIFICA	1 - 10	10 - 1000
PLATOS TEORICOS/METRO	2500 (ϕ 2 mm)	3000 (ϕ 0.25 mm)
CAPACIDAD	10 μ g/pico	50 ng/pico
GROSOR PELICULA DE FASE: μ	1 - 10	0.05 - 1.0

Tabla 25.- Diferencias entre parámetros para columnas de relleno y capilares.

muestras y el incremento de sensibilidad al mejorar los sistemas electrónicos, y principalmente con la aparición de columnas prácticamente irrompibles, se han superado con mucho estas deficiencias.

La superioridad de la cromatografía de gases con columnas capilares para resolver los más de cien componentes de las mezclas complejas de PAC (compuestos aromáticos policíclicos), fue demostrada inicialmente por Liberti y colaboradores en 1964 (222), pero es a partir de 1975 con el desarrollo de las columnas capilares de vidrio, cuando la utilización de esta técnica se hace cada vez más efectiva en el análisis de contaminantes, al haberse podido resolver eficazmente pares de isómeros como fenantreno-antraceno, benzo(a)antraceno-criseno, benzo(b)fluoranteno - benzo(k)fluoranteno o benzo(a)pireno-benzo(e)pireno (161)(223).

Entre las muchas ventajas que conlleva la utilización de columnas capilares en el análisis por cromatografía de gases de los PAC, podemos indicar además del sorprendente incremento de eficacia y resolución, el que con ellas pueden distinguirse pequeñas diferencias estructurales de posición de los grupos alquilo así como la posibilidad de acoplamiento de ésta técnica con la espectrometría de masas como medio de identificación de los compuestos separados.

Por otra parte, aunque la espectrometría de masas es un poderoso medio de identificación, algunos isómeros presentan espectros casi idénticos y para realizar una identificación efectiva de ellos es esencial el poder de resolución de este tipo de columnas y la precisión de los datos de retención conseguidos en ellas.

Cuando se estudian datos de retención de estos compuestos, se observa que las eluciones siguen generalmente las directrices relativas a su punto de ebullición, pero en lo que respecta a la diferenciación de isómeros, aunque con pequeñas variaciones, las retenciones mayores corresponden a la molécula más extendida para un mismo número de anillos y peso molecular. Así pues, el fenantreno se eluye ligeramente antes que el antraceno y el benzo(j)fluoranteno antes que el benzo(k)fluoranteno o los tres isómeros de peso molecular 252 eluyen en el orden benzo(e)pireno-benzo(a)pireno-perileno.

Es de señalar que los picos obtenidos utilizando columnas capilares son mucho más estrechos y de simetría esencialmente triangular, lo que facilita su cuantificación incluso por la altura de pico.

Las técnicas de inyección actualmente utilizadas obligan a partir de temperaturas iniciales inferiores a las utilizadas con columnas de relleno, siendo a veces este detalle muy útil ya que los problemas de descomposición son menores y se reduce asimismo el tiempo de análisis.

Dentro de la cromatografía de gases de alta eficacia con columnas capilares de sílice fundida (100 % SiO_2), pueden eliminarse los pretratamientos de desactivación elevándose aún más las cotas de eficacia. Aunque la técnica de fase ligada fue inicialmente dominio de la cromatografía de líquidos, actualmente está superada en la cromatografía de gases de alta eficacia. Fases de siliconas no polares se distribuyen y ligan químicamente a las paredes de las columnas capilares de determinados vidrios pretratados con técnicas bien estudiadas. La película de fase de estas características no se arrastra con disolventes orgánicos convencionales y es además muy estable a altas temperaturas, minimizando el efecto de

sangrado de las columnas.

Para la determinación de la mayor parte de los compuestos orgánicos ambientales la columna cromatográfica capilar empleada viene siendo de una longitud comprendida entre 20 y 30 metros y un diámetro interior de 0.2 - 0.3 mm, con un espesor de la película de 0.25 micras. La pérdida de resolución que se produce de 30 metros a 15 metros es sustancialmente pequeña.

Por lo que respecta a la eficiencia de este tipo de columnas, es importante establecer un adecuado compromiso entre la eficiencia conseguida y la elución de los compuestos. El punto clave a considerar es el número de platos teóricos por unidad de longitud de la columna que viene siendo generalmente de 3000 platos teóricos por metro aproximadamente (224)(225).

En resumen, tanto las dimensiones de la columna como la película depositada en la pared de la misma, la velocidad del gas portador, la programación de la temperatura y el límite de la temperatura del horno van a depender de la muestra o del tipo de análisis que se quiera realizar, llegando a una situación de compromiso entre todos los anteriores parámetros. Lee (226) realizó un estudio con todos ellos y comprobó que frente a dos columnas de dimensiones una doble que la otra y permaneciendo constante el resto de los parámetros considerados, sólo se aprecia un aumento de una unidad en el número de separación TZ (Tennzahl) o resolución, que se define como el cociente entre la distancia entre dos picos homólogos y la suma de las anchuras a media altura de dichos picos menos 1:

$$T_z = \frac{\Delta (C_n, C_{n+1})}{b \cdot 0.5(C_n) + b \cdot 0.5(C_{n+1})} - 1$$

donde Δ es la distancia entre dos picos consecutivos y b es la base a la mitad de la altura.

El valor que da el cociente representa el número de picos posibles que pueden eluir entre una pareja de picos homólogos resueltos (226).

La temperatura a la que eluye una determinada especie es inversamente proporcional al diámetro interno de la columna, a medida que disminuye el diámetro se observa un ligero aumento de la eficiencia y un marcado incremento en la capacidad de carga.

Respecto al espesor de la fase depositada, el aumento de espesor produce una elevación en la temperatura de elución y en la capacidad, y una disminución en la eficiencia por producirse una mayor resistencia a la transferencia de masa.

Respecto a la velocidad del gas portador, es directamente proporcional a la resolución e inversa a la temperatura de elución.

Los gases recomendados para aplicaciones cromatográficas en columnas capilares son el hidrógeno y el helio fundamentalmente, aunque pueda emplearse también el nitrógeno, pero produce peores separaciones que los otros dos.

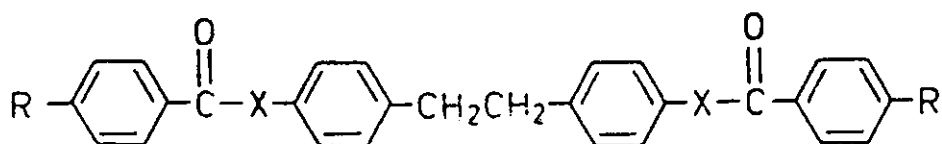
La gran dificultad que entraña la separación de isómeros de los hidrocarburos aromáticos policíclicos o los compuestos aromáticos poliheterocíclicos con azufre u otros átomos que poseen diferentes grados de alquilación hace que las columnas capilares no sean lo suficientemente selectivas para tales fines.

Se desarrolla actualmente una amplia investigación en un tipo de sustancias conocidas como cristales líquidos (226) para ser utilizadas como fases estacionarias, por presentar gran selectividad en la separación de este tipo de compuestos isoméricos.

Este tipo de fases se conocen desde los años 60, pero recientemente con el desarrollo de las columnas capilares se está incrementando enormemente su campo de aplicación. Estas sustancias son muy numerosas aunque sólo un

determinado grupo de ellas ha sido estudiado para aplicaciones en cromatografía de gases; incluso algunas de ellas se han preparado comercialmente (227).

Estas fases estacionarias están basadas en estructuras complejas similares a:



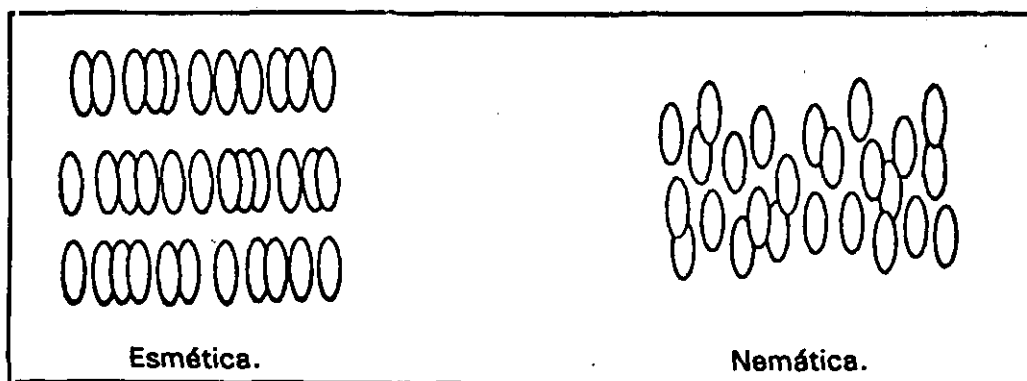
etilen-n-n'difenilen-bis-p-metoxibenzoato.

dónde $X = O$ ó S y $R = OC_nH_{2n+1}$ pudiendo variar n entre 1 y 4.

Mientras que en las fases estacionarias convencionales las interacciones entre éstas y los solutos se deben a fuerzas de dispersión, dipolo - dipolo o dipolo - dipolo inducido, en las fases estacionarias de cristal líquido la selectividad cromatográfica se basa únicamente en la forma de las moléculas. La interacción entre la forma de la molécula de soluto y los grupos funcionales compactos y ordenados del cristal líquido proporcionan una mayor separación que la de los mecanismos de separación tradicionales.

Para un cierto rango de temperaturas comprendido entre el punto de fusión y el punto de transición, en el cual el líquido se presenta en fase isotrópica, el cristal líquido adquiere un determinado grado de orientación molecular que le permite tener unas propiedades intermedias entre un sólido y un líquido isotrópico. Los compuestos que responden a estas propiedades son los derivados del bifenilo y terfenilo, bases de Schiff, azo y azoxi compuestos, ésteres, isotiocianatos, etc.

La forma más común de las moléculas de los cristales líquidos es alargada y semejante a la que presenta un cigarro puro, aplanada a lo largo de su eje longitudinal. Cuando tienen una cierta orientación pero sin orden de colocación, se dice de ellas que poseen estructura *nemática* y cuando tienen una colocación y orientación similar unas a otras se dice que presentan estructura *esméctica* (228)(229).



Se han obtenido buenos rendimientos en cuanto a la estabilidad térmica y eficacia empleando monómeros como los anteriormente citados, ligados al esqueleto de un polisilano o a un compuesto polimérico, el cristal líquido resultante depositado en la columna tanto de forma estática como dinámica de igual manera a la que se deposita en las columnas capilares convencionales está teniendo un amplio campo de aplicación sobre todo en el análisis de compuestos aromáticos polinucleares.

Un ejemplo de estas separaciones lo tenemos en los ocho isómeros del 1-8-alkilnaftaleno. El orden de elución en una columna normal SE-30 es 1; 2 y 3; 4,5; 6,7 y 8, no quedando resueltos los picos 2 y 3 ni 6,7,8. Por el contrario, en una columna de cristal líquido MPMS, el orden de elución es 3; 8; 2; 1; 5; 6; 4; 7, todos ellos completamente resueltos (230). Como puede observarse la alta selectividad de los cristales líquidos hace posible la separación de compuestos que sólo se diferencian en la forma que presenta la molécula.

La combinación de la selectividad que proporcionan los cristales líquidos y la alta eficacia que presentan las columnas capilares, contribuyen a excepcionales separaciones de mezclas muy complejas. Existe amplia información bibliográfica sobre separaciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos utilizando cristales líquidos (231)(232)(233)(234).

También se han utilizado cristales líquidos poliméricos como fases estacionarias para cromatografía de fluidos supercríticos, mejorando aún las separaciones de isómeros conseguidas por cromatografía de gases (235).

2.4.3.2. Detectores

En la cromatografía de gases de alta resolución existe la posibilidad de emplear distintos detectores para el estudio de los compuestos orgánicos en el aerosol: el detector de ionización de llama, el fotométrico de llama, de captura electrónica, y el selectivo de masas.

El detector de ionización de llama FID (*Flame ionization detector*) es en la actualidad el sistema de detección casi universalmente utilizado en la detección de compuestos que contienen carbono, siendo los hidrocarburos los compuestos para los que presenta una mayor sensibilidad.

Aunque la respuesta para los hidrocarburos aromáticos es menor que para los alifáticos, existe un amplio rango de linealidad superior a 10^6 y los límites de detección pueden llegar a ser inferiores a un nanogramo.

Dependiendo del volumen de muestra tomada de aire (aproximadamente 800 m³) y el volumen final a que se lleva ésta (100-200 µL), el límite de detección para PAH's está alrededor de 0.01 ng / m³ (236).

Debido a que la respuesta del detector para cada uno de los PAH's varía en función de las condiciones cromatográficas impuestas y de las características del detector en sí, se hace necesario previamente a la realización del análisis, determinar los factores de respuesta de cada uno de los compuestos.

Se han utilizado otros detectores para la determinación de PAH's en materia particulada atmosférica, como es el caso del detector de captura electrónica ECD (*electron capture detector*), siendo la respuesta función del tipo de estructura que tenga el compuesto. La relación de las respuestas que un compuesto da con el detector de captura e ionización de llama, puede servir para caracterizar isómeros de los PAH's (237).

Compuestos heterocíclicos con nitrógeno o azufre presentes también en la materia particulada, pueden así mismo ser determinados por medio del detector termoiónico o fotométrico de llama.

Recientemente se han desarrollado otros tipos de detectores de mayor sensibilidad que el FID, como es el caso del *detector de fotoionización PID* que se ha revelado extraordinariamente útil para la determinación de PAH's (238) y algunos otros detectores en la actualidad en fase de experimentación como es el MMID (*Multimode ionization detector*) consistente en la combinación de un detector de captura y de emisión de electrones. Se ha mostrado de gran utilidad en la diferenciación de isómeros de los PAH's o PAH's alquilados (239).

2.4.3.3. Sistemas de inyección

Como ya se ha indicado anteriormente, debido a la pequeña cantidad de fase estacionaria que llevan depositadas las columnas capilares, se ve limitada la cantidad de muestra susceptible de ser introducida en las mismas, lo que hacía su uso restringido para el análisis de elementos traza. Actualmente, y debido a los nuevos sistemas de inyección, esta dificultad ha quedado resuelta.

Al introducir una muestra en la columna se produce la evaporación de la misma. Como la columna se encuentra a una temperatura inferior a la de la muestra, en el inyector se produce una condensación de la mayor parte de la muestra en un pequeño frente o banda en cabeza de la columna. De esta manera pueden producirse fenómenos de discriminación, alteración de los productos más lábiles, evaporación de la muestra sobre la superficie de la aguja de inyección, además de otros fenómenos producidos por el septum como pueden ser adsorciones de la muestra o cesión del material del septum, lo que produce picos extraños en el cromatograma.

Las nuevas técnicas de inyección, hacen que la cromatografía de gases de alta eficacia supere en ventajas a la cromatografía en columna de relleno que no presenta ningún problema serio a la hora de la introducción de la muestra.

Los sistemas de introducción de muestra que actualmente se emplean son fundamentalmente: inyección con división del gas portador que lleva la muestra o "*split*", sin división o "*split-less*" (240)(241); inyección directa "*on column*" (242), o mediante un inyector automático empleando los procedimientos anteriores (243).

La técnica de "*split*" supuso la forma de no saturar la columna con un exceso de muestra, dividiendo ésta estequiométricamente.

La inyección de muestras con la técnica de "*split-less*", se conoció como método de Grob, siendo la técnica más frecuente en cromatografía de gases de alta resolución.

En el campo ambiental y concretamente en el análisis de componentes del aerosol, es la técnica predominante, ya que como hemos visto muchos de los compuestos se encuentran en concentraciones de trazas. Esta técnica se recomienda en los métodos analíticos publicados por la EPA (244).

La técnica de "*split-less*" permite emplear dos sistemas de introducción de muestra: uno, es el efecto disolvente (*solvent effect*), otro, la condensación por frío (*cold trapping*).

El primer efecto, "*solvent effect*", se recomienda para inyectar trazas ya que el disolvente que las contiene condensa en la parte inicial de la columna. El procedimiento consiste en inyectar uno o dos microlitros de muestra en el inyector que se encuentra a una temperatura elevada con la válvula de *split* cerrada y la columna a una temperatura entre 30 y 50°C por debajo del punto de ebullición del disolvente.

El disolvente condensa en la columna concentrándose los componentes en una banda estrecha en cabeza de la misma. A continuación, se purga el disolvente del

inyector. Esta técnica tiene como ventajas que todos los componentes se introducen en la columna y se disminuyen las colas en el disolvente.

El sistema "cold trapping" está recomendado para elementos traza que tengan un punto de ebullición elevado. El procedimiento consiste en poner la columna a una temperatura por lo menos 100°C por debajo del punto de ebullición del disolvente. La muestra condensa de la misma manera que ocurría en el procedimiento anterior en una banda estrecha. Cuando la válvula de split se abre de nuevo el disolvente se elimina y la columna se calienta rápidamente. Ambos procedimientos pueden desarrollarse simultáneamente.

Tanto la técnica de "split" como la de "split-less" pueden mejorar extraordinariamente cuando se utiliza un inyector automático. El simple hecho de introducir y sacar la aguja en un tiempo que puede oscilar alrededor de 100 milisegundos elimina el efecto de discriminación que produce la aguja de la jeringa y la relación de áreas entre $n\text{-C}_{40}$ / $n\text{-C}_{10}$ es alrededor de 1 frente a 0.8 para uno o dos segundos que es el tiempo de una inyección manual normal.

También es necesario tener en cuenta el tamaño del tubo de cristal o glass-liner que se encuentra en el vaporizador, ya que un microlitro de cualquier disolvente se expande entre 250 y 400 microlitros a 250° C. Una pequeña cantidad de lana de vidrio silanizada ayuda a retener en el caso de los PAH's los homólogos más pesados como son los que tienen de cinco anillos condensados en adelante.

Para compuestos aromáticos policíclicos se ha utilizado también el inyector on-column con buenos resultados experimentales.

2.4.3.4. Determinación de los parámetros operacionales

La técnica de cromatografía en fase gaseosa de alto poder de resolución debe

realizarse bajo unas condiciones experimentales fijas y determinadas para obtener la máxima eficacia en las determinaciones que se llevan a cabo.

La temperatura a que debe estar sometida la columna, detector e inyector una vez fijadas han de estar rigurosamente termostatadas con el fin de que sus variaciones sean mínimas.

Por otra parte, los flujos de los gases deben presentar una perfecta estabilidad ya que cuando se trabaja con columna capilares, el mantenimiento de los parámetros anteriores es crítico.

En el estudio de la composición química del aerosol, donde los compuestos a identificar presentan un rango muy amplio para sus puntos de ebullición se hace necesaria una programación de temperatura de tal forma que puedan eluirse los compuestos más pesados como el n-triacontano ($n\text{-C}_{30}$) o el coroneno ($\text{C}_{24}\text{H}_{12}$) en un tiempo prudencial. Por esta razón se hace necesario empezar a una temperatura baja (50°C) para producir un efecto solvente y a continuación una rampa de temperatura entre 3°C y 10°C por minuto, de manera que permita una correcta separación entre picos de compuestos homólogos.

En el tema de columnas, se han ensayado diferentes tipos de ellas, fundamentalmente fases no polares que son óptimas para los compuestos de la fracción neutra dónde se encuentran los hidrocarburos. Su baja polaridad hace que el orden de elución sea creciente con el peso molecular.

Además, la mayoría de los compuestos estudiados poseen un elevado peso molecular lo que hace que las columnas deben tener una estabilidad térmica considerable, de ahí que las fases de tipo silicona caracterizadas por poseer una estabilidad térmica muy elevada sean las más comúnmente utilizadas.

Es importante hacer notar que con estas condiciones operativas se pueden separar fácilmente el $n\text{-C}_{17}$ del fitano y el $n\text{-C}_{18}$ del pristano, hidrocarburos isoprenoides presentes muy frecuentemente en muestras ambientales.

Son muy variadas las fases utilizadas en las separaciones cromatográficas de los compuestos del aerosol en columnas capilares (226). Fundamentalmente se han ensayado la OV-1, compuesta al 100 % de dimetilsilicona, y la SE-30 de características similares para la determinación de hidrocarburos alifáticos y la SE-54 cuya composición es 94 % dimetil, 5 % difenil, 1 % vinilpolisiloxano, así como la BMBT [NN'-bis(p-metoxibenciliden)- $\alpha\alpha'$ bi-p-toluidina] de cristal líquido para la separación de hidrocarburos aromáticos.

Las condiciones operativas se han estudiado con patrones de referencia procedentes de la Environmental Protection Agency (EPA) y CROMLAB con certificado de garantía cuantitativa.

Para los hidrocarburos alifáticos se ha utilizado la serie homóloga de las n-parafinas desde el decano, n-C₁₀, al hexatriacontano, n-C₃₆. Respecto a los hidrocarburos aromáticos, los patrones han sido del naftaleno al coroneno que son los componentes que habitualmente están presentes en el aerosol atmosférico.

En este estudio se ha pretendido ver las diferencias que existen dentro de las mejores condiciones cromatográficas de separación para estos compuestos entre una fase constituida enteramente por estructuras de metilsilicona como son la OV-1 y la SE-30, y otra como la SE-54 en la que interviene, aunque sea en un porcentaje muy bajo (5 %), la fenilmetilsilicona y un 1 % de grupos vinilo, en base a su mejor utilización y mayor selectividad.

Los resultados obtenidos (245) indican que el incremento de la polaridad de la SE-54 frente a la OV-1 se traduce en una mayor retención, lo que favorece una programación de gradientes de temperatura más bajos, en nuestro caso de 5° C por minuto a 3.5° C por minuto en la SE-54. Este hecho da como resultado una mejora en la resolución de isómeros y además al eluir los compuestos a temperaturas inferiores pueden dejar margen para una continuidad de programación para compuestos de mayor número de átomos de carbono en los hidrocarburos alifáticos y de mayor número de anillos en los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Los factores de respuesta obtenidos para los PAH's (nanogramo / unidad de área) son aproximadamente del mismo orden de magnitud para todos los compuestos en la columna SE-54, sin embargo, en la OV-1 estos valores no solamente son mayores sino que también se incrementan notablemente a partir del primero. Es consecuente pues que sus límites de detección sean significativamente grandes en relación con la columna SE-54.

Respecto a los hidrocarburos alifáticos, la respuesta viene siendo aproximadamente igual en las dos columnas en lo que se refiere al orden de magnitud y tanto por ciento de desviación. Solamente a partir de un elevado número de átomos de carbono se encuentran diferencias marcadas, que se considera sean más bien consecuencia de la temperatura a la que emerge el compuesto, en estrecha relación con otros parámetros circunstanciales de la técnica de inyección.

De los datos señalados se desprenden claramente las posibilidades de utilización de una u otra columna en función de los compuestos de la mezcla que se pretenda analizar y las condiciones exigidas en cada caso. Pueden así mismo estos datos facilitar el establecimiento de un adecuado compromiso entre eficacia, respuesta y elución de los compuestos, pudiéndose adoptar la columna ligeramente polar SE-54 para hidrocarburos aromáticos y la OV-1 o la SE-30 para hidrocarburos alifáticos.

No obstante, la introducción de muestras realizada con un inyector automático mejora notablemente la eficacia, no habiendo diferencias significativas entre los factores de respuesta tanto absolutos como relativos en comparación con la inyección manual que es significativamente discriminatoria para compuestos de elevado peso molecular, como puede apreciarse en los resultados de los ensayos realizados utilizando el 9-metil-antraceno y el nonadecano como patrones internos, y que se señalan en las tablas 26, 27 y 28.

Los parámetros básicos a la hora de poner un método cromatográfico a punto son fundamentalmente: la linealidad de la respuesta del detector, el límite de detección y los factores de respuesta de cada uno de los componentes de una mezcla patrón para el análisis cualitativo.

COMPUESTO	I. MANUAL			I. AUTOMATICA		
	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD
NAFTALENO	4.6386	0.1744	3.76	0.8699	0.032	3.67
BIFENILO	6.1150	0.2171	3.55	0.8620	0.019	2.25
ACENAFTILENO	7.3870	0.3368	4.56	0.7764	0.026	3.30
ACENAFTENO	12.796	0.4760	3.72	0.7229	0.019	2.65
FLUORENO	6.5590	0.2348	3.58	0.8960	0.023	2.62
FENANTRENO	6.6853	1.0028	15.0	0.7610	0.019	2.50
ANTRACENO	5.6287	0.0878	1.56	0.9325	0.032	3.45
C ₁₉	-	-	-	0.9831	0.027	2.72
9-MET-ANTRAC.	0.9843	0.0513	5.21	0.7711	0.024	3.13
FLUORANTENO	8.8683	0.2714	3.06	0.7311	0.019	2.67
PIRENO	7.0473	0.2544	3.61	0.7509	0.027	3.60
B.FLUORENO	5.3557	0.2635	4.92	0.8918	0.035	3.92
B.A.ANTRAC.	4.6740	0.4010	8.58	1.0792	0.037	3.43
CRISENO	4.9617	0.4064	8.19	0.7546	0.026	3.42
B(a)PIRENO	6.7423	1.3727	20.36	1.1099	0.038	3.46
PERILENO	8.1380	1.6203	19.91	0.9762	0.0344	3.46
D.B(ah)ANTRAC.	-	-	-	1.5222	0.114	7.46

Tabla 26.- Factores de respuesta absolutos.

COMPUESTO	I. MANUAL			I. AUTOMATICA		
	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD
NAFTALENO	-	-	-	1.0769	0.0254	2.35
BIFENILO	0.8892	0.0310	3.49	1.0305	0.0264	2.56
ACENAFTILENO	0.9420	0.0551	5.85	0.9698	0.0228	2.35
ACENAFTENO	0.8589	0.0499	5.81	0.9177	0.0216	2.35
FLUORENO	0.8959	0.0744	8.31	1.0710	0.0252	2.34
FENANTRENO	0.9819	0.0436	4.44	0.9606	0.0226	2.35
ANTRACENO	0.8357	0.0628	7.51	1.1219	0.0271	2.45
C ₁₉	1.0182	0.0539	5.3	1.2480	0.0294	2.35
9-MET-ANTRAC.	-	-	-	-	-	-
FLUORANTENO	0.8968	0.0831	9.27	0.9251	0.0216	2.33
PIRENO	0.9870	0.0448	4.54	0.9510	0.0230	2.42
B.FLUORENO	1.3493	0.0809	5.99	1.1011	0.0289	2.62
B.A.ANTRAC.	1.7964	0.3347	18.63	1.3534	0.0356	2.62
CRISENO	1.0807	0.0694	6.42	0.9279	0.0196	2.11
B(a)PIRENO	1.5558	0.1315	8.45	1.4901	0.0289	1.93
PERILENO	1.5458	0.1845	11.93	1.3214	0.0347	2.62
D.B(ah)ANTRAC.	3.2578	1.8109	55.59	-	-	-

Tabla 27.- Factores de respuesta relativos al 9-metil-antraceno.

COMPUESTO	I. MANUAL			I. AUTOMATICA		
	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD	\bar{x}	σ_{n-1}	RSD
NAFTALENO	-	-	-	0.8110	0.0221	2.73
BIFENILO	0.8748	0.0496	5.68	0.8159	0.0222	2.72
ACENAFTILENO	0.9515	0.0616	6.47	0.7506	0.0204	2.72
ACENAFTILENO	0.8438	0.0340	4.03	0.7152	0.0195	2.72
FLUORENO	0.8802	0.0642	7.29	0.8606	0.0234	2.72
FENANTRENO	0.9759	0.0561	5.75	0.7566	0.0206	2.72
ANTRACENO	0.8213	0.0577	7.03	0.8732	0.0238	2.73
C ₁₉	-	-	-	-	-	-
9-MET-ANTRAC.	0.9843	0.0513	5.21	0.7661	0.0208	2.72
FLUORANTENO	0.8795	0.0406	4.62	0.7383	0.0201	2.72
PIRENO	0.9702	0.0344	3.55	0.7450	0.0203	2.72
B.FLUORENO	1.3250	0.0299	2.26	0.9400	0.0256	2.72
B.A.ANTRAC.	1.7776	0.3898	21.93	1.0783	0.0294	2.72
CRISENO	1.0612	0.0327	3.08	0.8134	0.0222	2.72
B(a)PIRENO	1.5326	0.1643	10.72	1.2354	0.0337	2.72
PERILENO	1.5224	0.2036	13.37	1.0779	0.0294	2.72
D.B(ah)ANTRAC.	3.5077	1.6087	45.86	1.5754	0.0429	2.72

Tabla 28.- Factores de respuesta relativos al nonadecano.

2.4.3.5. Linealidad de la respuesta del detector.

Se ha estudiado la variación de la respuesta del detector en función de la cantidad de los PAH's inyectados en la columna para un rango de concentraciones comprendidas entre las normales que se encuentran en muestras ambientales 2 - 5 nanogramos y la cantidad máxima aceptable para una columna capilar operativa 50 - 100 nanogramos dependiendo del espesor de la película depositada en la columna.

El estudio se ha efectuado con una muestra patrón, a partir de la cual se han realizado las correspondientes diluciones en ciclohexano (245). Se indican junto con los PAH's para los que se ha realizado el estudio, las cantidades máximas en nanogramos inyectadas y para las cuales la respuesta del detector fué lineal y el factor de correlación obtenido en el ajuste de valores del rango estudiado.

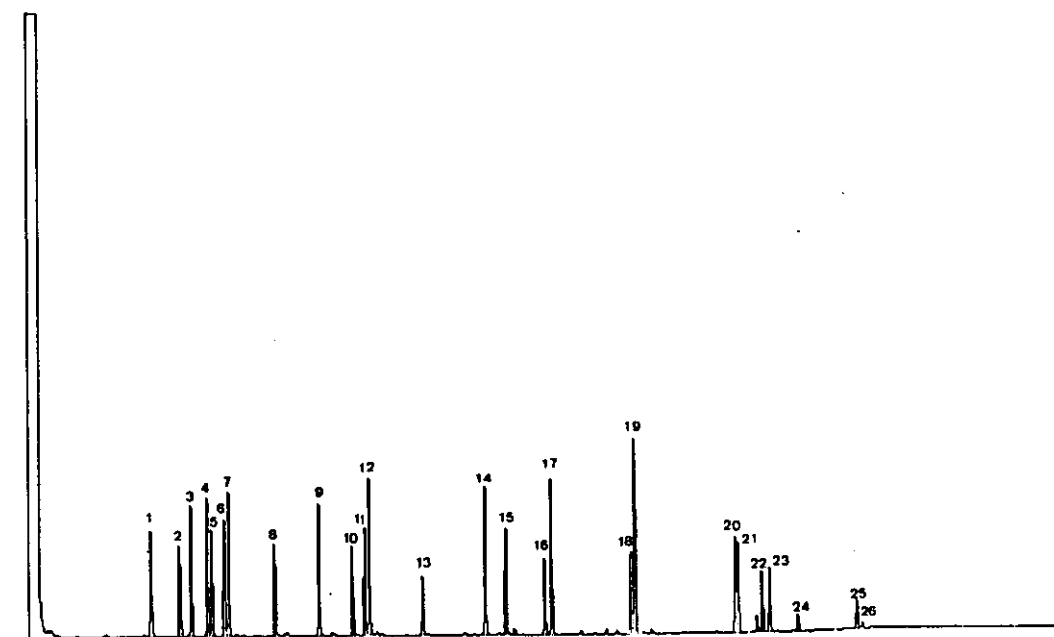
COMPONENTE	CANTIDAD ng	FACTOR DE CORRELACION
Naftaleno	21.1260	0.997
Bifenilo	20.7858	0.996
Acenaftileno	22.4000	0.994
Acenafteno	40.0000	0.995
Fluoreno	20.4000	0.994
Fenantreno	19.6000	0.995
Antraceno	18.4000	0.994
Fluoranteno	12.7793	0.995
Pireno	26.5661	0.995
Benzo(a)fluoreno	20.1320	0.994
Criseno	21.5115	0.985
Perileno	10.7582	0.999
Benzo(a)pireno	8.8280	0.999

Tabla 29.- Factor de correlación de la respuesta lineal del detector.

2.4.3.6. Resolución y eficacia

En el análisis de los hidrocarburos aromáticos policíclicos es muy importante obtener la mayor resolución y eficacia posibles sobre todo en lo que respecta a la separación de pares de isómeros y más concretamente cuando uno de estos isómeros es un agente cancerígeno y el otro no, como es el caso del benzo(a)pireno considerado como altamente cancerígeno y su isómero el benzo(e)pireno que no lo es.

En el cromatograma que se muestra a continuación, se puede apreciar que la separación de fenantreno-antraceno; benzo(a)antraceno-criseno o benzo(a)pireno-benzo(e)pireno-perileno es óptima.



Cromatograma correspondiente a una secuencia de Hidrocarburos aromáticos.

1 = 1M.Naftaleno, 2 = Bifenilo, 3 = 2,6DM.Naftaleno, 4 = 2,3DM.Naftaleno, 5 = Acenaftileno, 6 = 1,8DM.Naftaleno, 7 = Acenafteno, 8 = Fluoreno, 9 = 9,10D.HidroAntraceno, 10 = Dibenzotiofeno, 11 = Fenantreno, 12 = Antraceno, 13 = 2M.Antraceno, 14 = Fluoranteno, 15 = Pireno, 16 = B(a)Fluoreno, 17 = B(b)Fluoreno, 18 = B(a)Antraceno, 19 = Criseno + Trifenileno, 20 = B(b)Fluoranteno, 21 = B(k)Fluoranteno, 22 = B(e)Pireno, 23 = B(a)Pireno, 24 = Perileno, 25 = DB(ac + ah)Antraceno, 26 = B(g,h,i)Perileno.

2.4.3.7. Limite de detección

De acuerdo con la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), el límite de detección es la concentración más baja de una especie química que puede ser determinada y estadísticamente diferente de un blanco analítico (246).

La cantidad mínima detectable de los hidrocarburos aromáticos policíclicos se ha determinado con el patrón señalado anteriormente. Para el estudio de este parámetro se ha considerado el nivel de ruido obtenido bajo las condiciones experimentales de análisis dentro de las características de máxima sensibilidad del equipo considerando el límite de detección como el doble de la señal producida por el ruido $S/N = 2$ (247). Para ello se han preparado diferentes diluciones del patrón desde 1:2 a 1:20 observándose que en todos los PAH's estudiados y en las condiciones de máxima sensibilidad del instrumento se aprecian concentraciones inferiores a 0.1 nanogramo para todos los hidrocarburos estudiados.

2.4.3.8. Identificación y medida de los compuestos orgánicos ambientales.

La cromatografía de gases de alta resolución es realmente la técnica idónea para el análisis tanto cualitativo como cuantitativo de mezclas complejas de hidrocarburos que están presentes en el aerosol atmosférico.

El alto poder de resolución que presentan las columnas capilares hace que se puedan separar un gran número de sustancias presentes en el aerosol y que pueden identificarse con la ayuda de sustancias patrón de pureza reconocida que presentan similares tiempos de retención en condiciones cromatográficas idénticas.

El gran problema del análisis cualitativo consiste en la dificultad que se presenta al no existir como patrones todas y cada una de las posibles sustancias

que se encuentran presentes en la atmósfera. Se han sugerido formas de identificación mediante índices de retención de Kovats muy útiles para series homólogas, aplicables por ejemplo a la fracción alifática del aerosol, dónde se pueden identificar los n-alcanos y olefinas. Otras series homólogas pueden servir para identificar ácidos grasos, n-alcoholes o esteranos presente en otras fracciones.

Cuando se trata de estudiar mezclas complejas de hidrocarburos aromáticos policíclicos o heterocíclicos, en las condiciones actuales de resolución, es posible separar más de 150 compuestos como lo demuestran las numerosas publicaciones realizadas al respecto.

La gran cantidad de compuestos isoméricos o con diferentes tipos de sustituyentes hace que sea prácticamente imposible tener colecciones de patrones de referencia, por lo que se ha tratado de aplicar también para la caracterización de los hidrocarburos aromáticos policíclicos índices de retención para ser identificados.

Lee (248) ha sugerido la utilización de naftaleno, fenantreno, criseno y piceno como patrones para los hidrocarburos que tienen dos, tres, cuatro y cinco anillos, asignándoles los índices de retención 200.00, 300.00, 400.00 y 500.00 para su empleo en columnas capilares de sílice fundida y fase estacionaria del tipo SE-52 que es una metilfenilsilicona, y con una columna de 12 metros y 0.29 mm de diámetro, con un espesor de 0.34 micras de fase.

Los métodos de identificación que utilizan la técnica de espectrometría de masas tienen un campo importante en la identificación de compuestos orgánicos aromáticos.

Esta técnica de la espectrometría de masas (249) (250) se basa en la ionización en vacío de las moléculas, lo que provoca la formación de grupos de iones de masas caracterfsticas diferentes. Una vez separados estos iones, la

representación de sus abundancias relativas frente a sus masas forma el *espectro de masas* que es inequívoco para cada molécula.

Hay dos mecanismos fundamentales de ionización de las moléculas: la ionización por impacto de electrones y la ionización química. La ionización por impacto electrónico es la más utilizada para la caracterización de compuestos aromáticos policíclicos.

Para completar la información estructural se puede emplear una técnica de ionización suave que consiste en ionizar la molécula con iones de un gas previamente ionizado.

Actualmente existen amplias librerías de espectros que ayudan a la identificación de cada compuesto por medio de los fragmentogramas característicos de los mismos .

3. APLICACION DEL ESTUDIO DE METODOLOGIAS REALIZADO A LA CARACTERIZACION DEL AEROSOL DE MADRID

3.1. EQUIPOS Y MATERIAL.

3.1.1. Equipos de muestreo.

Los equipos de muestreo empleados en este trabajo, han sido fundamentalmente captadores de alto volumen tal y como vienen especificados en el apartado 2.1.5.1.

Para la estación de referencia situada en la localidad de San Pablo de los Montes (Toledo), se ha diseñado un equipo de alto volumen tipo MCV con un motor capaz de muestrear volúmenes superiores a 70 m³/hora, considerando que, siendo ésta una estación de fondo, las concentraciones de partículas en el aire serían pequeñas, lo que haría necesarios grandes volúmenes de muestra para su análisis.

En la estación de la Ciudad Universitaria se ha empleado para el muestreo un equipo de alto volumen, modelo Sierra Andersen tipo PM10, al que se ha acoplado un impactador Sierra Andersen, modelo 236 (20CFM), con siete etapas para el fraccionamiento de partículas que permita conocer la distribución de los compuestos orgánicos en el aerosol.

3.1.2. Equipos de extracción y clean-up.

Para la extracción de los filtros de fibra de vidrio, se han empleado baterías de seis soxhlets tipo Selecta, así como baños ultrasónicos tipo Branson. Los extractos obtenidos por ambos procedimientos fueron concentrados en rotavapores tipo Selecta y Büchi, acoplados al sistema de vacío canalizado del propio laboratorio.

Para el clean-up se han empleado columnas de vidrio de 1 cm de diámetro y 40 cm de longitud con llave de teflon, rellenas de gel de sílice convenientemente preparada.

3.1.3. Equipos cromatográficos.

El análisis cromatográfico se ha llevado a cabo en un equipo de alta resolución Hewlett Packard modelo 5890A, y un cromatógrafo de alta resolución DANI modelo 6800, equipados ambos con detectores de ionización de llama.

Los inyectores empleados fueron de tipo manual y automático (Hewlett Packard modelo 7673A), utilizándose las técnicas tanto de split como de splitless de acuerdo con las exigencias de la muestra a analizar.

Las columnas empleadas en la realización de este trabajo fueron fundamentalmente de sílice fundida, cuyas fases estacionarias responden a las características de las denominaciones DB-5 (J&W), SE-54, SE-30 y OV-1. Todas ellas de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro y 0.30 μ de espesor de película químicamente ligada a la columna.

También se empleó una columna de cristal líquido tipo MPMS, marca Aldrich, siendo su longitud de 25m, 0.25 mm su diámetro interior y 0.15 μ el espesor de fase. Para esta última columna de cristal líquido, fué necesario utilizar una trampa de oxígeno con el fin de evitar la destrucción de la fase estacionaria.

3.1.4. Equipo de espectrometría de masas.

Los análisis por espectrometría de masas se realizaron con un equipo Hewlett Packard, modelo 5980A, cuadrupolo, con ionización de impacto y química .

El análisis cuantitativo se realizó mediante un sistema cromatográfico de cálculo Hewlett Packard 3359A, con un soporte informático compuesto por un disco de 80 Mb, una lectora de cintas y una lectora de cassettes, así como de dos monitores VGA.

3.1.5. Equipos auxiliares.

Entre los equipos auxiliares empleados, podemos citar como esenciales los siguientes:

Mufla para purificación de los filtros utilizados.

Estufa para el secado de los adsorbentes empleados.

Estufa de vacío para el secado del material de vidrio.

Balanza de precisión Mettler H35, $d = \pm 0.1$ mg.

Lámpara UV para comprobar la elución de los PAH's.

3.1.6. Disolventes y productos químicos.

Los disolventes empleados para las extracciones y clean-up, fueron: hexano, cloruro de metileno, ciclohexano, alcohol metílico, así como benceno, tolueno y acetonitrilo para la preparación de patrones y mezclas de los mismos. Todos ellos de la marca Burdick & Jackson, de alta pureza cromatográfica.

Se ha utilizado gel de sílice Merck, de 60-230 mesh, como principal adsorbente en el proceso de clean-up y algunos otros productos químicos como sulfato sódico y cloruro cálcico Merck para otros diversos usos.

3.1.7. Patrones de referencia.

Los patrones de hidrocarburos alifáticos y aromáticos fueron suministrados por la EPA. Las mezclas calibradas de patrones fueron suministradas por la casa comercial CROMLAB, y fueron las siguientes:

CL/ALIFATICOS-12: C₁₁-C₃₀ + Pristano-Fitano

CL/ALIFATICOS PESADOS: C₃₂-C₃₈

CL/AROMATICOS-E: Naftaleno a Coroneno (30 compuestos)

CL/FTALAT-606: Dimetil ftalato de di-n-octil ftalato (6 compuestos).

3.1.8. Material diverso.

Entre el conjunto del diverso material utilizado, consideramos de interés el siguiente:

Soxhlets ámbar de 100 mL para la extracción de los filtros.

Soxhlets de 1000 mL para la purificación de gel de sílice, lana de vidrio, etc.

Columnas de vidrio de 40 cm de longitud y 1 cm de diámetro, con llave de teflon.

Matraces de fondo redondo de 100 mL para extractos.

Viales de tapón de rosca (3.7 mL) para extractos.

Pipetas automáticas de 20 y 200 µL.

Pipetas de diferente aforo.

Pipetas Pasteur.

Lana de vidrio.

Jeringas Hamilton de 1, 5, 100, 250 y 500 µL.

Filtros Whatman GF/A, de 15 cm de diámetro, de 20.3 x 25.4 cm y ranurados de 15 x 55 cm.

Programas informáticos: WordPerfect 5.1 (Tratamiento de textos), Microsoft Chart 3.0 (Elaboración de gráficos), Statgraphics (Tratamiento estadístico).

3.2. MUESTREO: TECNICAS Y CARACTERISTICAS.

3.2.1. Técnicas de muestreo.

La toma de muestras se realizó de acuerdo con el programa de muestreo preestablecido para cada una de las estaciones. Se utilizaron los equipos descritos en el apartado 2.1.5.1 y 3.1.1, programados éstos para trabajar durante períodos de 24 horas con un caudal medio de 35-40 m³/hora.

Las muestras se recogieron en filtros de fibra de vidrio Wahtman GF/A, de 15 cm de diámetro. Estos filtros antes de ser colocados en el captador se sometieron a una calcinación a 400°C, en mufla durante un período de 48 horas (254), a fin de eliminar las impurezas que pudieran interferir posteriormente en la identificación de los compuestos orgánicos presentes en el aerosol.

Los filtros utilizados en el muestreo, envueltos en papel de aluminio, e introducidos en un desecador, se mantuvieron a temperaturas inferiores a -18°C.

3.2.2. Puntos de muestreo.

Los muestreos para este trabajo se han realizado en Madrid capital, ciudad que cuenta con una población de 3.102.846 habitantes (255), y que se caracteriza por un elevado nivel de tráfico cuya intensidad es destacable en las denominadas "horas punta".

En Madrid, como en todas las grandes urbes, existe durante los períodos invernales de noviembre a abril de cada año un aumento de la contaminación por el empleo de calefacciones domésticas. Por otra parte, existen zonas industriales periféricas cuya contribución al incremento de la contaminación es muy de tener

en cuenta para el conjunto global de la misma:

Para la toma de muestras se han seleccionado diversos puntos de la ciudad según criterios ya establecidos (256).

Estos puntos de muestreo están situados dentro de la propia ciudad, y separados entre sí por distancias inferiores a 10 Km.

En la figura 12 y en la tabla 30, vienen indicados los diferentes puntos de muestreo así como sus características geográficas y posicionales, señalándose a continuación otras connotaciones que consideramos de interés.

	CIUDAD UNIVERSITARIA	PASEO DEL PRADO	LEGAZPI	SAN PABLO DE LOS MONTES
SITUACION GEOGRAFICA	3° 43' W 40° 27' N Altitud: 661 m	3° 41' W 40° 24' N Altitud: 656 m	3° 41' W 40° 23' N	0° 39' 50'' W 39° 32' 4'' N Altitud: 917 m.
TIPO DE ZONA	Residencial-urbana	Urbana	Industrial-urbana	Rural Estación de fondo
TRAFICO (257) Vehículos/día	27500	105000	164000	Tráfico mínimo
LOCALIZACION DEL CAPTADOR	Terraza instalacio- nes antigua E.N.S. 20 m del suelo	Terraza edificio M° Sanidad y Consumo 8ª Pl. 25 m del suelo	Terraza edificio REPSOL. 6 m del suelo	C. Meteorológico I.N. Meteorología Plataforma 0.8 m
CODIGO	ENS	MSC	LGZ	SPM

Tabla 30.- Características de los puntos de muestreo.

El punto de muestreo de la Ciudad Universitaria (ENS), está situado en la zona noroeste de la ciudad, a unos dos kilómetros del centro urbano y localizado en el antiguo edificio de la Escuela Nacional de Sanidad. Corresponde a un área que presenta grandes espacios abiertos y edificaciones universitarias entre las que se encuentran amplias zonas ajardinadas. Las fuentes de contaminación más características son las derivadas del tráfico rodado (fundamentalmente constituido



Figura 12. Plano de la ciudad de Madrid. Situación de los puntos de muestreo.

por turismos, con poca contribución de tráfico pesado) y las calefacciones en los períodos invernales, no estando influenciada por focos puntuales próximos.

Este punto de muestreo está considerado por la Organización Mundial de la Salud como zona residencial en el Programa Mundial de Vigilancia de la Contaminación Atmosférica (SIMUVIMA).

El punto de muestreo del Paseo del Prado (MSC), se encuentra en el centro de la ciudad, en una zona de gran densidad de tráfico en lo que constituye una arteria de circulación que atraviesa la ciudad en dirección norte-sur, y en la que existe una gran variedad de edificaciones entre las que se encuentran no pocos edificios antiguos con instalaciones de calefacción mal reguladas. Se da también la circunstancia de la proximidad de una amplia zona verde correspondiente al parque del Retiro.

La estación de Legazpi (LGZ), se encuentra localizada en la zona Sur de Madrid y dentro de un área de tráfico predominantemente pesado, influenciada además por la presencia de una vía de circunvalación que soporta gran densidad de tráfico de forma continua.

Por último, la estación de San Pablo de los Montes (SPM) está considerada como una estación "básica" de contaminación del aire, encuadrada dentro de las estaciones regionales por la Organización Meteorológica Mundial.

Corresponde a la estación considerada como punto de referencia; una estación de este tipo debe estar localizada en zonas de aire limpio, siendo su función obtener niveles de concentración general de distintos parámetros de contaminación del aire que deben ser representativos a nivel mundial.

Situada en la pequeña localidad de San Pablo de los Montes en la provincia de Toledo, y a unos 130 Km al SSE de Madrid, constituyó el primer emplazamiento del Programa Europeo de Evaluación y Vigilancia de la Contaminación Atmosférica a gran Distancia (Red EMEP).

Durante el año 1989, se han realizado 100 muestreos distribuidos de la

siguiente manera: 76 en la ciudad de Madrid, de los cuales 28 muestreos se llevaron a cabo en la Ciudad Universitaria, en la denominada estación urbana-residencial; 35 de ellos en la estación urbana del Paseo del Prado y 13 en la estación de Legazpi. Los 24 muestreos restantes corresponden a la estación rural-fondo de San Pablo de los Montes (Toledo).

En el año 1990 se tomaron 178 muestras, de las cuales 142 pertenecen al área urbana de Madrid, distribuidas como sigue: 50 muestras en la Ciudad Universitaria, 54 muestras en el Paseo del Prado y 38 muestras en Legazpi. Las 36 muestras restantes son las que corresponden a la estación de San Pablo de los Montes (Toledo).

Las muestras de estas estaciones han sido recogidas periódicamente y según el programa establecido que se detalla a continuación. El total de las muestras procesadas a lo largo de los dos años señalados es por lo tanto de 278.

3.2.3. Períodos de muestreo y parámetros meteorológicos.

El muestreo se ha realizado como ya hemos indicado, a lo largo de los años 1989 y 1990. Para las estaciones urbanas, la toma de muestras se llevó a cabo durante un período de 24 horas, una vez cada siete días coincidiendo siempre el mismo día de la semana, siguiendo criterios de la EPA (95) para muestras integradas y teniendo en cuenta que por algunos estudios realizados (258), existe poca diferencia entre muestras correspondientes a diferentes días de la semana.

En la estación de San Pablo de los Montes se respetó la duración del tiempo de muestreo (24 horas) y el tiempo transcurrido entre dos tomas de muestra consecutivas (7 días), si bien se introdujo la modificación de ir rotando el día de la semana correspondiente al muestreo, de lunes a domingo.

Los parámetros meteorológicos a considerar han sido los indicados en el apartado 2.1.3. y que esquematizamos en la siguiente tabla.

PARAMETROS METEOROLOGICOS	
TEMPERATURA MAXIMA	TEMPERATURA MINIMA
HORAS DE SOL	PRECIPITACION
VELOCIDAD DEL VIENTO	DIRECCION DEL VIENTO
INVERSION SUPERFICIAL	CONDICIONES METEOROLOGICAS

Tabla 31.- Parámetros meteorológicos.

3.2.4. Análisis químico.

3.2.4.1. Extracción y clean-up.

Los filtros procedentes del muestreo se depositaban en el cuerpo de un extractor soxhlet, doblando el filtro cuidadosamente de manera que la materia carbonosa recogida en él, quedara hacia el interior.

Para las muestras recogidas a lo largo de los años 1989- 1990 el período de extracción fué de aproximadamente diez horas, equivalentes a 30 sifonadas.

Los disolventes empleados fueron cloruro de metileno y ciclohexano. La razón de la utilización del cloruro de metileno es que aún cuando el ciclohexano es un óptimo disolvente para la extracción de los hidrocarburos objeto de este trabajo, el empleo del cloruro de metileno añade la posibilidad de extracción de otra serie de compuestos que pueden ser objeto de estudios posteriores aunque no hayan de ser tratados en este trabajo.

Después de la extracción se procedió a la concentración del extracto en de rotavapor a un vacío de 10 Torr, y temperatura de 35°C para evitar pérdidas de

hidrocarburos de mayor volatilidad.

Los eluatos así obtenidos se concentraron antes de su purificación a volúmenes inferiores a 0.5 mL mediante una corriente de nitrógeno N-48.

La purificación se llevó a cabo en columna de sílica-gel convenientemente preparada. Para ello, la sílica-gel era previamente purificada en soxhlet con cloruro de metileno durante 24 horas. Una vez eliminado el disolvente, y secada convenientemente, fué activada en estufa a 100° C durante 12 horas. Posteriormente, previo enfriamiento, se desactivó con una cantidad de agua purificada proporcionada por un sistema Milli Q de Millipore, equivalente al 5% de su peso. Esta operación de desactivación se realizó en rotavapor hasta conseguir homogeneización completa.

Para el llenado de la columna se mezclaban ocho gramos de la sílica-gel desactivada con hexano, y se introducía en la columna de vidrio, de manera que la distribución del adsorbente en el interior de la columna fuera homogénea y con un grado de colmatación adecuado a fin de evitar la formación de burbujas en su interior que pudieran alterar la banda cromatográfica.

Previamente a su utilización en la purificación de las muestras, se realizaba un chequeo de cada lote de sílica-gel purificada. Para ello, se eluía a través de la columna de vidrio los mismos disolventes y siguiendo el mismo procedimiento que posteriormente se emplearía con las muestras, para comprobar que el adsorbente no proporcionaría picos extraños que pudieran alterar los resultados en el cromatograma final.

Para la purificación de la muestra, se depositaba ésta en la columna ya preparada y cuidadosamente mediante una pipeta Pasteur en la superficie del adsorbente. Se eluía en primer lugar con 30 mL de hexano (Fracción 1), en la que se incluyen los hidrocarburos alifáticos y compuestos menos polares de la muestra.

A continuación se añadían 40 mL de una mezcla de hexano-cloruro de metileno

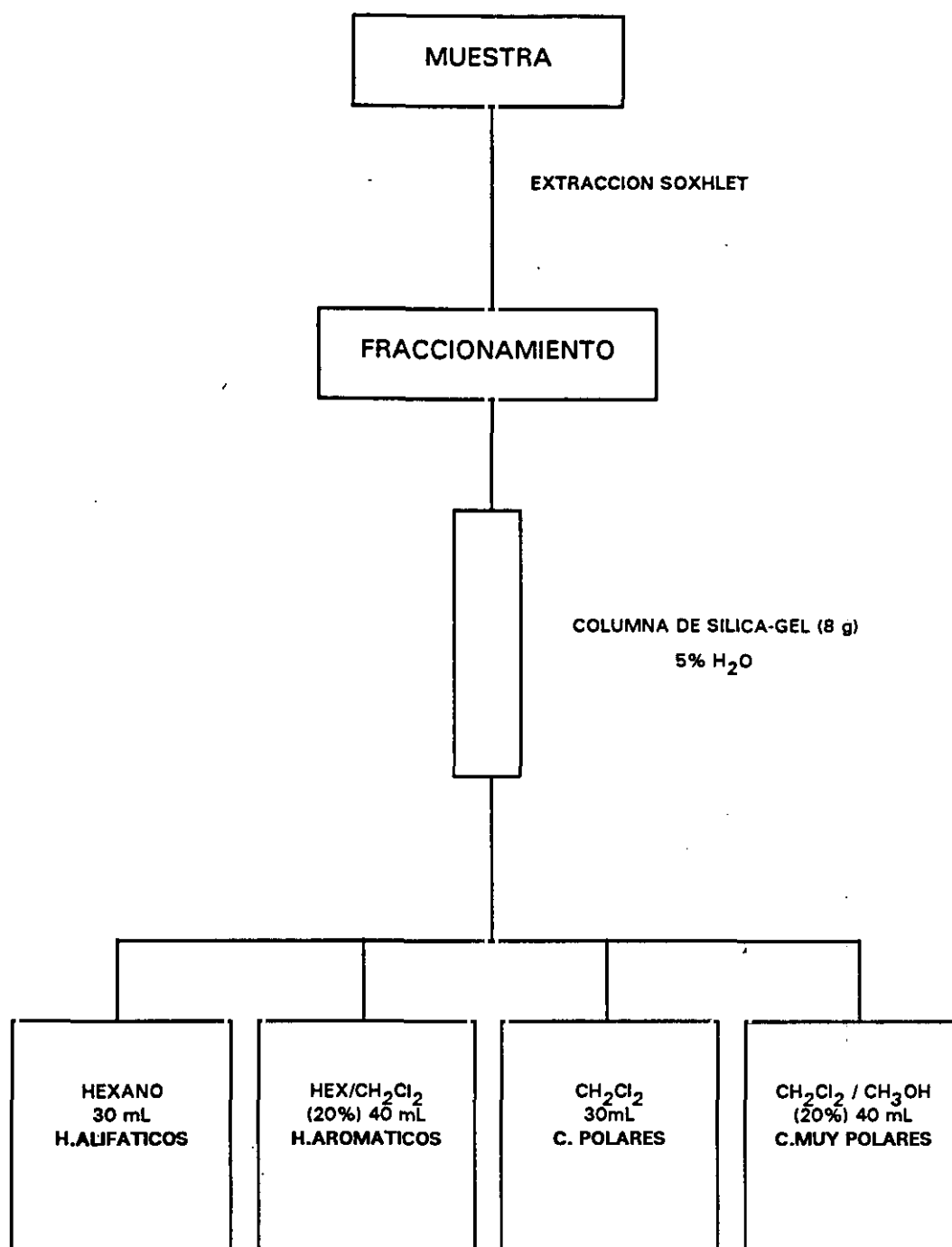


Figura 13.- Esquema del proceso de extracción - purificación y fraccionamiento.

(4:1) en la que se arrastraban los hidrocarburos aromáticos y otros compuestos de naturaleza poliaromática (Fracción 2).

Para la determinación de otros compuestos de polaridad diversa entre los que se incluyen compuestos de naturaleza quinónica, ácidos y alcoholes, etc, se elúan aún otras dos fracciones: la Fracción 3, obtenida con 40 mL de cloruro de metileno y la Fracción 4, obtenida con 40 mL de una mezcla de cloruro de metileno-metanol (4:1).

La elución de los PAH's de la Fracción 2, se controló observando con luz U.V. el movimiento de la banda cromatográfica fluorescente a través de la columna.

El diagrama del proceso de extracción - purificación anterior se representa en la Figura 13. Cada una de las fracciones procedentes de las eluciones realizadas, se concentraban en rotavapor hasta un volumen aproximado de 1 mL. Posteriormente, se concentraban de nuevo en corriente de nitrógeno hasta el volumen más conveniente en cada uno de los casos particulares.

3.2.4.2. Análisis cromatográfico.

El análisis de los extractos procedentes de las fracciones anteriormente descritas, se ha llevado a cabo en columnas capilares DB-5 y SE-30, con el siguiente programa de temperaturas para los hidrocarburos alifáticos (Fracción 1) temperatura inicial de 50°C durante un minuto, con elevación progresiva de 10°C por minuto hasta alcanzar los 100°C y manteniendo a esta temperatura durante un minuto, elevándose de nuevo a 3.5°C por minuto hasta los 300°C, permaneciendo 27 minutos a esta temperatura.

Los hidrocarburos aromáticos (Fracción 2), se cromatografiaron en una columna SE-54 con el siguiente programa de temperaturas: temperatura inicial de

100°C, durante un minuto, con elevación progresiva de 3.5°C por minuto hasta alcanzar los 300°C, en los que se mantiene durante 22 minutos.

Tanto para la Fracción 1 como para la Fracción 2, la temperatura del detector fué de 300°C, y la del inyector de 270°C.

3.2.4.3. Análisis cualitativo.

El análisis cualitativo se realizó mediante la técnica de espectrometría de masas utilizando una columna capilar de 30 metros SPB-5 de 0.25 mm de diámetro y 0.25 μ de espesor de fase.

El programa de temperatura fué de una temperatura inicial de 50°C durante dos minutos y medio, con un incremento de 10°C por minuto hasta alcanzar los 250°C. Se utilizó helio como gas portador. La temperatura de la fuente fué de 200°C, la de la línea de transferencia 275°C, y la del inyector 250°C.

Para la identificación de las distintas sustancias presentes en las muestras se utilizó la técnica de impacto electrónico como la ionización química, empleando metano como gas ionizante y una energía de ionización de 70 eV.

3.2.4.4. Análisis cuantitativo.

El análisis cuantitativo de las muestras pertenecientes al aerosol de Madrid, objeto de este estudio, se realizó mediante un programa de cálculo cromatográfico con el que está dotado el equipo HP 5890A a través del HP 3359A Worksystem, que emplea el método Genie de cálculo cromatográfico. Este tipo de técnicas cromatográficas computarizadas está ampliamente desarrollado (259).

En primer lugar, se prepara un método cromatográfico mediante el cual se determinan los factores de respuesta con los patrones certificados disponibles y descritos en el apartado 3.1.7. Las áreas de cada uno de los compuestos que constituyen estos patrones se obtienen mediante la integración que sea más conveniente para cada uno de los picos en particular. Esta integración es posible realizarla visualmente, siendo por lo tanto susceptible de las modificaciones que se consideren necesarias.

La utilización del inyector automático proporciona al método analítico una gran precisión, como fué demostrado en el estudio realizado a tal fin en el apartado 2.4.3.4, Tablas 26, 27 y 28.

El método así preparado permite además cuantificar secuencias de muestras, dentro de las que es posible: recalibrar el patrón, ajustar los tiempos de retención, etc. Por otra parte, hace posible operar con patrones internos para comprobar la fiabilidad de los análisis. En nuestro caso se emplearon el α, α' -binaftilo y el β, β' -binaftilo como patrones internos, y como patrones externos las series indicadas en el apartado 3.1.7.

Una vez procesadas las muestras, se pueden realizar modificaciones de los parámetros de integración visualizando los cromatogramas sin necesidad de volver a inyectar las muestras.

3.3. VALIDACION DEL PROCEDIMIENTO ANALITICO

A lo largo del estudio realizado sobre las metodologías en el Capítulo 2, se han ido validando las diferentes etapas del procedimiento de determinación de los compuestos orgánicos presentes en el aerosol: muestreo, tratamiento de las muestras (extracción, clean-up o purificación) y análisis cromatográfico.

En este apartado se trata de validar el método analítico global a emplear para el análisis de las muestras de aerosoles tomadas (Apartado 3.2.2).

Para ello, se utilizó una muestra certificada del National Bureau of Standards. Este material de referencia (SRM-1649), sirve para la evaluación y calibración del método analítico para la determinación de constituyentes orgánicos a niveles de traza sobre una muestra de materia particulada atmosférica recolectada en el área urbana de Washington DC durante un período de doce meses. Esta muestra no representa necesariamente al área donde fué tomada, pero si es representativa de los problemas analíticos que pueden presentarse en la determinación de la materia particulada atmosférica recogida en un área urbana.

La muestra certificada responde a los resultados analíticos que se indican a continuación, estimados estos valores para un intervalo de confianza del 95%:

COMPUESTO	µg/g
Fluoranteno	7.1 ± 0.5
Benzo(a)antraceno	2.6 ± 0.3
Benzo(a)pireno	2.9 ± 0.5
Indeno(1,2,3-cd)pireno	3.3 ± 0.5
Benzo(ghi)perileno	4.5 ± 1.1

Para la realización de esta validación se llevó a cabo todo el proceso analítico que hemos venido indicando y detallando como método seleccionado del estudio realizado en la primera parte de este trabajo (Apartados 2.2, 2.3 y 2.4). Se tomaron cinco muestras de 250 mg cada una, del polvo atmosférico de la muestra certificada, realizándose cinco determinaciones analíticas tal y como se ha descrito anteriormente.

Se obtuvieron los resultados que vienen expresados en la Tabla 32.

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	\bar{x}	SD	$\bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$
Fluoranteno	5.9	5.9	6.1	6.1	6.1	6.0	0.1	6.0 ± 0.12
Benzo(a)antraceno	2.1	2.2	2.4	2.3	2.3	2.3	0.1	2.3 ± 0.12
Benzo(a)pireno	3.2	3.2	3.4	3.3	3.1	3.2	0.1	3.2 ± 0.12
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	3.7	4.2	4.6	5.4	5.0	4.5	0.7	4.5 ± 0.87
Benzo(g,h,i)perileno	4.5	5.0	5.4	5.7	6.3	5.3	0.7	5.3 ± 0.87

Tabla 32.- Resultados correspondiente a los datos de validación del procedimiento analítico.

De los datos anteriores se deduce que para un intervalo de confianza del 95%, los valores obtenidos en la determinación de los cinco hidrocarburos considerados incluyen los valores que para los mismos se dan en la muestra certificada. El fluoranteno es el compuesto cuyos resultados se desvían más de los de la muestra tomada como patrón, pudiendo justificar el resultado a la pérdida por evaporación a lo largo de todo el proceso analítico, dada su mayor volatilidad.

ABRIR CAPÍTULO 4

